



TITLE:

Sarkomycinの抗腫瘍性に関する研究

AUTHOR(S):

酒井, 克治

CITATION:

酒井, 克治. Sarkomycinの抗腫瘍性に関する研究. 日本外科宝函 1956, 25(6): 699-726

ISSUE DATE:

1956-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/206309>

RIGHT:

Sarkomycin の抗腫瘍性に関する研究*

大阪市立大学医学部外科学教室 (指導: 白羽弥右衛門教授)

講 師 酒 井 克 治

(原稿受付 昭和31年9月10日)

STUDIES OF THE ANTI-TUMOR EFFECT OF SARKOMYCIN

KATSUJI SAKAI

Department of Surgery, Osaka City University Medical School

(Director: Prof. Dr. YAEMON SHIRAHARA)

Sarkomycin is an anti-tumor substance which has been isolated from *Streptomyces erythrochromogenes* by UMEZAWA (1952) and is chemically identified as 2-methylene-3-oxocyclopentane-carboxylic acid (HOOPER, 1955). According to the previous reports, it is said to be an active agent possessed with anti-tumor effect and slight toxicity on experimental and clinical basis.

A study is made on the action mode of sarkomycin and possibility of experimental formation of a resistant strain of tumor cells against drug with the following results:

1) Sarkomycin is the most effective anti-tumor agent against both ascitic and solid form of Ehrlich's carcinoma of mice among nitrogen mustard N-oxide, 8-azaguanine, desacetyl-methyl-colchicine, 6-mercaptopurine and Co^{50} etc.

2) The cytostatic effect of sarkomycin is selective and most prominent on tumor cells during the mitotic phase. It lasts only for about 8 hours just the same as the filtrate of *Escherichia coli*. However, the drug is not considered to be a toxic agent for cell division or an anti-metabolic substance.

3) Following the administration of sarkomycin, permeability of the wall of normal blood capillary is decreased, while that of damaged ones is increased resulting in occasional hemorrhage and edema of the tissues.

4) It is experimentally and clinically demonstrated that sarkomycin causes an extensive capillary hemorrhage resulting in necrosis of the neoplastic tissues. Thus it must be emphasized that anti-tumor action mode of sarkomycin is much more active directly through the disturbance of blood supply following either hemorrhage or necrosis of the stroma of neoplasm than the direct effect on the tumor cells themselves.

5) EHRLICH'S carcinoma cells have acquired resistance against sarkomycin provided that they have been transplanted on NA_2 mice up to the 20th generation, during which the drug is administered with gradually increasing doses. On the other hand, it is considered that the malignancy of the tumor cells tends to decrease.

* 本論文の要旨は昭和30年4月12日第8回大阪市医学会例会, 昭和30年6月16日第77回近畿外科学会, 昭和30年6月18日日本抗生物質学術協議会関西支部第27回研究会, 昭和31年5月17日第4回日本化学療法学会総会において相ついで報告した。

ease following the acquisition of drug resistance.

6) A clinical course and findings of a case of pelvic sarcoma with extensive pulmonary metastases is described, in which inadequate administration of sarkomycin has probably induced resistance.

内 容 目 次

前 編

Sarkomycin の作用機序に関する実験的研究

第1章 緒 言

第2章 各種抗腫瘍剤の Ehrlich 癌に対する作用 (特に Sarkomycin を中心として)

1. 実験材料及び方法
2. 実験成績 1 : 腹水型 Ehrlich 癌に対する各種抗腫瘍剤の腹水腫瘍防止及び延命効果
3. 実験成績 2 : 結節型 Ehrlich 癌に対する各種抗腫瘍剤の腫瘍発育抑制効果
4. 小括並びに考察

第3章 Sarkomycin の腫瘍細胞に対する直接作用

1. Sarkomycin の Ehrlich 腹水癌細胞に対する態度
 - i) 実験材料及び方法
 - ii) 実験成績
2. Sarkomycin 投与による Ehrlich 腹水癌分裂細胞数の変動
 - i) 実験材料及び方法
 - ii) 実験成績
3. 小括並びに考察

第4章 Sarkomycin の血管系に対する作用

1. 悪性腫瘍組織内血管系に関する文献的考察並びに附加実験
2. Sarkomycin の有効な臨床例における考察
3. Sarkomycin の血管壁透過性に及ぼす影響
 - 実験 1.
 - 実験 2.

小 括

4. Shwartzman 現象に対する Sarkomycin の影響

- i) 実験材料
- ii) 実験成績
- iii) 小 括

第5章 総括並びに考察

第6章 結 論

後 編

Sarkomycin 耐性獲得に関する研究

第1章 緒 言

第2章 Ehrlich 腹水癌細胞の Sarkomycin 耐性獲得に関する実験的研究

1. 実験材料及び方法
2. 実験成績
 - i) 累代移植時の腹水中癌細胞数の変動
 - ii) 累代移植時の分裂癌細胞数の変動
 - iii) 異常分裂像出現の有無
 - iv) 宿主の生存日数
 - v) 累代第20代腹水癌細胞の形態学的変化
3. 小 括

第3章 Sarkomycin に耐性を獲得したと思われる1肉腫例

- i) 症 例
- ii) 検 討
- iii) 小 括

第4章 総括並びに考察

第5章 結 論

前編 Sarkomycin の作用機序に関する実験的研究

第1章 緒 言

抗生物質の出現によつて感染症が克服されつゝある現在、悪性腫瘍の本態並びにその化学療法の研究は医学界に残されたもつとも大きな課題の1つである。しかし化学物質によつて悪性腫瘍の発育を抑制しようとする試みは、こゝ10数年前から著しく活発となつて来ており、すでに数方にのぼる薬剤の抗腫瘍性が検索された結果、有効な物質が相ついで発見されている。ま

た最近における細胞化学の長足の進歩は電子顕微鏡、位相差顕微鏡などによる形態学的研究と相俟つて、抗腫瘍剤療法の分野にも明い希望をもたらしている。

一方抗生物質の研究が抗細菌から抗 Rickettsia, 抗 Virus へと進んでいるかたわら、かような微生物産生物によつても悪性腫瘍の発育を阻止しようとする試みが近年著しく盛になつて来ている。

或る種の抗菌性抗生物質が同時に抗腫瘍性をもつて

いることをとねえたのは Cornmann (1944)¹¹⁾をもつて嚆矢とする。彼は Penicillin が臨床上に應用されはじめたころ組織培養法を行い、粗製 Penicillin が実験腫瘍の發育を阻止することを観察した。その後多数の人々が既知抗生物質について、その抗腫瘍性を報告している。たとえば Stock (1953)¹²⁾は各種抗生物質についてマウス Sarcoma 180 の皮下腫瘍發育抑制作用を比較しているが、そのなかでも Oxytetracycline が著明な抗腫瘍性を示したと記述した。このように既知抗生物質、即ち抗細菌性或は抗カビ性抗生物質のなかには抗腫瘍作用をもつものがあるとの報告は、微生物産生物のなかには特に抗腫瘍性の著明なものがあることを予想せしめた。

あたかも時を同じくして、本邦の梅沢、米国の Porter は抗腫瘍性抗生物質を土壌菌の代謝産物中に探索の途次、比較的有望なものを発見するに至つた。その後この分野における發展は著しいものがあり、特に本邦では有効な抗腫瘍性抗生物質が続々と発見されている。

1952年梅沢⁴⁰⁾は鎌倉で採取した土壌から *Streptomyces erythrochromogenes* に類似した1菌株を分離した。そしてこの菌株が産生する物質中には吉田肉腫を移植したラットの生存日数を延長せしめる物質のあることを発見し、これを Sarkomycin と命名した。

時を同じくして1952年 Lederle 研究所の Porter³³⁾は *Streptomyces alboniger* という新種の放線菌を発見し、この菌株から産生される抗生物質 Achromycin を報告した。Achromycin は後に Puromycin と名付けられたが、やはりその抗腫瘍性が強調されている。また1952年 Hackmann¹³⁾は Brockmann によつて分離された Actinomycin C にはラットの腫瘍やマウスの Ehrlich 癌に対する抗腫瘍性のあることを確認し、注目をあびており、その後さらに本邦では、北里研究所の峯¹⁴⁾が1954年 Carzinophilin という新抗腫瘍性抗生物質を発表して、このものの強い抗腫瘍性が確認されている。そのほか Cycloheximide, Illudoin, Mitomycin などの抗腫瘍性抗生物質が相ついで発見され、悪性腫瘍に対する治療界の重大な関心事となるに至つた。

理想的な抗腫瘍剤をあげるとすれば、それは腫瘍細胞のみに特異な代謝環に入つて、腫瘍細胞の發育を選択的に阻害するような物質であることが望ましい。し

かし今日代謝の上では、腫瘍細胞と正常体細胞との間に根本的な差異がまだ明かにされていない。従つて今日の化学療法剤にして抗腫瘍性があるといわれる薬剤を臨床上に應用すれば、腫瘍細胞に対してのみ選択的に障害を与えることは難しく、同時に正常体細胞に対しても或る程度の有害作用を及ぼすのが常である。

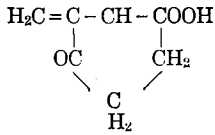
さてこれまでの抗腫瘍性合成化学療法剤はその作用機序が解明されて、石館 (1956)³⁴⁾によつてくわしく分類されている。

ところが微生物産生物質が示す抗腫瘍性作用の機序はまだ明かでない。とくに Sarkomycin にはその大量を長期間にわたつて使用しても、白血球減少症を起すことが殆んどなく、また幼若細胞に対する障害も殆んどみられない。それゆゑ Sarkomycin の抗腫瘍性は今日までの合成化学療法剤と異つた作用機序のもとに發揮されるものと考えねばならないが、それでは Sarkomycin は正常細胞に対しては全く毒性をあらわさず、腫瘍細胞に対してのみ選択的にはたらいで、その發育を抑制するものであるうか。私はこのような疑問を解決したいために以下2,3の実験を行つて、Sarkomycin がいかなる機作を通じて悪性腫瘍の發育を阻止するかを解明しようと試みた。

実験に先立ち梅沢らによつて報告された Sarkomycin の性状はつぎの如きものであることを識つた¹⁵⁾。

Sarkomycin は酸性の性状をもち、遊離酸の状態では水、メタノール、エタノール、ブタノール、醋酸エチルによく溶け、石油エーテルには殆んど溶けない。試作当初はシラップ状で、温度に対して不安定であつたが、結晶化されてからは比較的安定となつた。しかしこれを水溶液にすると、10°C以下に保存しても1日位しか力価の継続をみない。また Sarkomycin は各種の細菌及び少数のカビに対して極めて弱い發育阻止作用をもっているが、この性状を Sarkomycin の力価測定に利用することができる。この抗菌作用は Cystine など一連の SH-化合物の影響をうけるが、抗腫瘍性自体はかような影響をうけることがないといわれる。

なお Sarkomycin の化学構造は Hooper ら (1955)²²⁾によつて明かにされたが、2-methylene-3-oxocyclopentane-carboxylic acid で、つぎのような構造式をもっている。



第2章 各種抗腫瘍剤の Ehrlich 癌に対する作用 (特に Sarkomycin を中心として)

1. 実験材料及び方法

被験マウスとしては NA_2 均一系、体重 17~20g の雄を使用し、一定の飼料 (小麦、野菜、魚粉) のほかに生理食塩水を与えて飼育した。

Ehrlich 腹水癌細胞 $5 \sim 10 \times 10^6$ 個を被験マウスの腹腔内 (腹水型)、または両側側腹部皮下 (結節型) に接種し、移植後 24 時間目 (腹水型) または 48 時間目 (結節型) に、つぎのような各種抗腫瘍剤を投与した。なお 1 薬剤に対する被験マウスはそれぞれ 5 匹を用いて 1 群となし、無処置の 1 群を対照とした。

実験に用いた薬剤及びその投与量はつぎの通り、

Nitrogen mustard N-oxide (Nitromin, 吉富: 以下 NMO と略記する) 0.5mg, 8-Azaguanine (Azan, 田辺: 以下 AZ と略記する) 0.5mg, Des-acetylmethyl colchicine (Demecolcine, Ciba: 以下 DC と略記する) 1mg, 6-Mercaptopurine (武田: 以下 6-MCP と略記する) 2mg, Sarkomycin (万有: 以下 SKM と略記する) 3mg, 大腸菌濾液 (第 4 章, 4. 参照: 以下 Filt. coli と略記する) 0.05cc であつた。このほかに本学産婦人科学教室の御援助をうけ、 Co^{60} 20mc, 1 分間左側腹部から右側腹部に向つて隔日に 4 回照射した 1 群を設けた。

なお Filt. coli はこれを単独で用いないで、SKM 1.5mg と隔日交互に注射した。使用した SKM はまだ製品化されておらず、茶褐色のシラップ状のもので、1 バイアル中に SKM 1g (力価) を含んでいた。

これら薬剤を連日 10 日間投与して、毎日被験マウスの体重を測定し、またその死亡日を記録するとともに剖検して、腹水型では腹腔内の癌性腹水の滯溜状態を確かめて腹水の性状を記載し、結節型マウ

スでは腫瘤を摘出してその重量を測定した。

なおこれらの抗腫瘍剤のうちで、SKM を除いた他の製剤については作用機序が解明せられており、また Ehrlich 癌に対するこれら薬剤の作用についてもすでに数多くの報告があるので、本稿においては特に SKM を中心にその効果を検討した次第である。

2. 実験成績 1: 腹水型 Ehrlich 癌に対する各種抗腫瘍剤の腹水滯溜防止及び延命効果: 図 1 には NMO, AZ, DC, 6-MCP, SKM 投与後のマウスの体重増加曲線及び生存率をあらわした。

すなわち対照群マウスは移植後 2 日目から毎日著しい体重増加を示し、移植後 15 日目より死亡しはじめて 21 日後には全例が死亡し (平均生存日数 18.6 日)、かつ全例において黄色粘稠な癌性腹水を多量に証明された。

これに対して NMO 投与群、AZ 投与群はよく似た体重増加曲線を描きつゝ、前者は 22~29 日 (平均 25.6 日)、後者は 19~26 日 (平均 22.2 日) に全例死亡した。しかし NMO 投与群の腹水は中等量しか滯溜しなかつたが、AZ 投与群ではやや粘稠度の低い腹水が多量に証明された。

これに対して DC 及び 6-MCP 投与群は対照に比しその体重増加がやや緩慢ではあるが結局は著しい体重

図1. 各種抗腫瘍剤投与後の腹水型 Ehrlich 癌移植マウスの体重増加曲線及び生存率

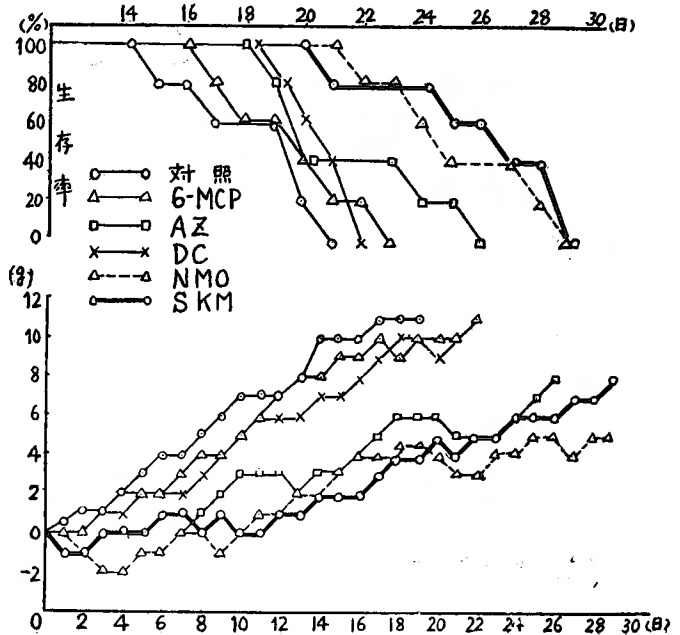
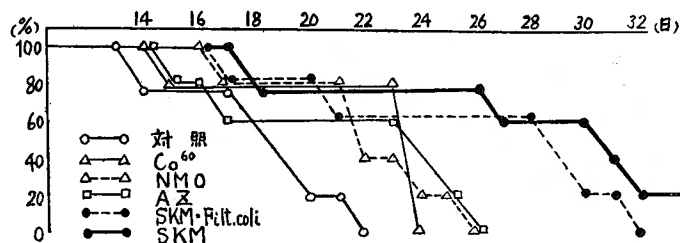


図2. 各種抗腫瘍剤投与後の結節型 Ehrlich 癌移植マウスの生存率



増加を示し、17～23日中に全例が死亡した（平均生存日数 DC 20.6日、6-MCP 19.8日）。この両群の腹水の性状と滲溜の状態は対照群と全く変りがない。

SKM 投与群では移植5日後から体重が徐々に増加しはじめたが、この体重増加曲線は比較的なだらかである。試験は移植後21日目より死亡しはじめ、29日後には全例が死亡した。死亡後剖検を行つたところ、腹水の滲溜は中等量で、5匹中2匹の腹水は血性であつた。平均生存日数は26.2日で、5種薬剤投与群のうちではもつとも長い生存日数を記録した。

3. 実験成績2：結節型 Ehrlich 癌に対する各種抗腫瘍剤の腫瘍発育抑制効果

図2はNMO、AZ、SKM、SKM・Filt. coli 投与及びCo⁶⁰照射によるEhrlich結節癌移植マウスの延命効果をあらわしたものである。

対照群の平均生存日数18.8日に対して、NMO、AZ投与群はそれぞれ22.2日、23.2日とほぼ同様な生存日数を示し、両者とも軽度ではあるが延命効果がみられる。これに対してCo⁶⁰照射群は投与量が少なかつたためか、対照群と大差がなく、平均生存日数は21.0日であつた。

前3者に対してSKM及びSKM・Filt. coli 交互投与群ではそれぞれ生存日数が延長されている。すなわちSKM投与群では17日後に1匹死亡したが、30日後

でも60%の生存率を示し、さらにこの群中の1匹は42日間にわたつて生存した。SKMとFilt. coliとを交互に注射した群でも、やはり生存日数が延長した。すなわち16日後に1匹死亡したが、28日後でも60%が生存し、32日目に至り全例が死亡した。平均生存日数はSKM投与群では30.0日、SKM・Filt. coli 交互投与群では25.8日であつた。

すなわちSKM単独投与群の延命効果をもつとも顕著で、SKM・Filt. coli 交互投与群がこれにつき、NMO及びAZ投与群は対照群に比べて、その生存日数がやゝ延長されたが、Co⁶⁰照射群では対照群との間に大差をみとめなかつた。

表1には実験マウス死亡時の腫瘍の重量を表記したが、各群とも腫瘍の重さはそれぞれ著しい幅をもっている。しかし平均値に示されたように、対照群3.88gに対して、SKM投与群1.26g、SKM・Filt. coli 交互投与群1.60g、NMO投与群1.74g、AZ投与群2.08g、Co⁶⁰照射群2.35gとなつて、SKM単独投与群が最小値を示した。

4. 小括並びに考察

梅沢¹⁷⁾、石山ら(1955)¹⁸⁾はEhrlich癌をddN系マウスの腹腔内に移植し、6時間以内にSarkomycinを注射しはじめると、最低量2.5mg(力価)12日間投与によつて、マウスの体重増加を完全に阻止し、かつ延命効果があつたことを報告している。しかしこの実験の場合でもSarkomycinを投与する時期が問題になつており、移植後24時間以内に治療を開始するか、24時間後に注射をはじめると、抗腫瘍性効果の発現には著しい差異があることをみとめている。

私の用いたEhrlich癌腹水型の場合に薬剤を投与しはじめたのは移植24時間後、結節型に対しては48時

表1. 結節型 Ehrlich 癌移植マウスに各種抗腫瘍剤投与後、死亡時の腫瘍の重さ

実 験 群	腫瘍重量の幅	平 均 値
NMO 投与群	0.2～4.5(g)	1.74(g)
AZ 投与群	0.6～3.8	2.08
SKM 投与群	1.2～2.4	1.26
SKM・Filt.coli 投与群	0～4.2	1.60
Co ⁶⁰ 照射群	0.8～3.4	2.35
対 照	1.3～9.2	3.88

間後に治療を開始した。薬剤投与の開始を24時間以内に行っていたならば、さらに有望な成績がえられたかもしれない。しかしもともと臨床には悪性腫瘍発生の直後に治療を開始するようなことは全く不可能である。それでかりに両実験とも癌移植24時間後を選んで薬剤を投与して、その効果を検討したわけである。

しかし他種抗腫瘍剤と Sarkomycin の抗腫瘍性を比較した結果では、Sarkomycin は腹水型、結節型いずれの Ehrlich 癌に対しても、もつとも有効であった。特に結節型 Ehrlich 癌に対する Sarkomycin の抗腫瘍性は甚だ著明であつて、腫瘍の増大は抑制され、対照群の1/3に近い重量を示したにすぎず、また試験の生存日数も著しく延長された。この成績は梅沢らの報告した Sarkomycin の腫瘍抑制成績とよく一致する。

なお本実験ではマウスの生存日数が一般に短いが、これは実験が冬季に行われたため、実験室の不備がマウスの飼育に著しく影響したためかと思われる。

第3章 Sarkomycin の腫瘍細胞に対する直接作用

1 Sarkomycin の Ehrlich 腹水癌細胞に対する態度

従来ある薬剤の抗腫瘍性を判定するには、実験腫瘍を被検動物に移植した後にその薬剤を投与して、試験における腹水の滞留を抑制する作用、もしくは移植腫瘍の増大抑制或は宿主の延命効果などを観察し、薬剤の抗腫瘍性を識る主な指標として来た。しかし近時における位相差顕微鏡の発達は細胞学上に著しい進歩をもたらしたのであつて、これを用いて腫瘍細胞を観察すれば、生細胞の微細構造を簡単にかつ全体的に把握できるのみならず、腫瘍細胞学上もつとも重要な所見である核分裂時の染色体の生態を観察することができる。それゆゑ Sarkomycin の腫瘍細胞に対する直接作用を検討するために Ehrlich 腹水癌細胞を用いて Sarkomycin 投与後の腫瘍細胞の形態学的変化を位相差顕微鏡下で追求した。

i) 実験材料及び方法

NA₂ 均一系マウスで体重 20g の雄の腹腔内に Ehrlich 癌細胞 10×10^6 個を移植4日後、癌細胞がもつとも旺盛に増殖している時期に、まず腹水を1滴採取し、癌細胞の増殖状態を観察した後、1~5mg の Sarkomycin を腹腔内に投与した。その後経時的に少

量の腹水を採取し、位相差標本を作製した。位相差標本の作り方については武田(1956)¹⁾ が詳しく記載している。標本は観察後必要に応じて適宜写真撮影を行い、これを保存した。

ii) 実験成績

写真1及び2は Sarkomycin 3mg 投与後1時間目の Ehrlich 腹水癌細胞像であるが、すべての細胞の細胞質は強く収縮して、四方に多数の偽足様突起を出した像がみられる。

このような細胞質の収縮が高度になると、写真3にみられるように Golgi 域からの細胞質の噴水像となつてあらわれて来る。写真3の標本は Sarkomycin 5mg を腹腔内に投与して1時間後に採取した腹水であつて、位相差顕微鏡下で観察している数分間のうちに噴出された像である。

写真4は Sarkomycin 1mg を3回、3日間にわたつて投与した後採取した腹水であつて、核網像の出現のために一見細胞分裂の初期像と見誤れる程である。このような中間期の核網像は Sarkomycin のため受けた障害によつて核蛋白が凝集を起したものと思われる。その著明な場合はつぎに述べる分裂細胞の染色体にみられる。

写真2及び4にもみられるが、写真5は分裂癌細胞の変性像を示している。この腹水は Sarkomycin 5mg 1回投与1時間後に採取したものであつて、分裂癌細胞は強い変性に陥り、その染色体は細胞の中央に強く凝集され或は一塊となり、個々の染色糸を識別し難い。また核仁の肥大及び空胞形成像も細胞変性を示唆している。なおこれらの細胞にも細胞質収縮に伴う偽足様突起の形成がみられる。

写真6は Sarkomycin 3mg を3回、3日間投与した後採取した腹水であるが、このような巨細胞が形成されることも多い。

写真7は遊走細胞に対する Sarkomycin の影響をみたものである。すなわちこの標本は Sarkomycin 3mg を3日間連続注射したのちに採取したもので、遊走細胞には著明な変性像がみられない。

2. Sarkomycin 投与による Ehrlich 腹水癌分裂細胞数の変動

位相差顕微鏡下で観察された Sarkomycin の Ehrlich 癌細胞に対する直接作用は、癌細胞特にそのなかでも分裂癌細胞に対してこの薬剤が比較的選択的に障害を与えることであつた。

それではこのような Sarkomycin の分裂障害作用はどの位持長するものであらうか、これを明にするためつぎの如き検索を行った。

i) 実験材料及び方法

Ehrlich 腹水癌移植後 1 週間を経過したマウスを試験として、Sarkomycin 1mg 或は 3mg を腹腔内に投与し、その後は一定時間毎に腹水を少量ずつ採取した上で、それぞれについて染色標本を作製した。すなわち腹水は薬剤投与前に 1 回採取して対照とし、薬剤投与の後は 2, 4, 8, 12, 18, 24, 28 時間目に腹水を採取した。これらの腹水はその少量を直ちに載物ガラス上に塗抹し、乾燥を待たずにエーテル・アルコール等量混合液中で固定、水洗の後、ヘマトキシリン・エオジンで染色、鏡検、この標本について休止期の癌細胞 2,000 個を数え、そのうちに含まれる分裂癌細胞数を計算した。

Sarkomycin は熱に対して不安定であるとの報告があるので、別に Sarkomycin 3mg/cc 溶液を 37°C のフラン器内に 3 時間半放置した上で、このように加温した Sarkomycin についても、その癌細胞に対する影響を分裂癌細胞数の変動に求めた。

図 3. Sarkomycin 及び大腸菌濾液注射後分裂癌細胞数の変動

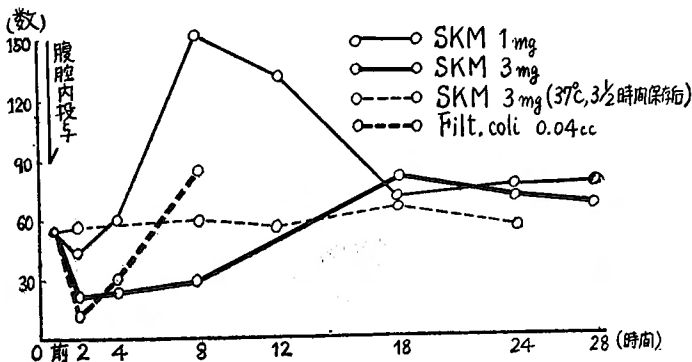


表 2. Sarkomycin 及び大腸菌濾液注射後の分裂癌細胞数の変動
(休止癌細胞 2,000 個中の分裂癌細胞数)

種 類	投与後時間	2	4	8	12	18	24	28
SKM 1mg		46	60	153	132	70	74	77
SKM 3mg		19	22	29		78	69	65
SKM 3mg (37°C, 3.5h 時間保存後)		54		59	57	63	55	
Filt.coli 0.04cc		11	30	84				

また本実験中対照として大腸菌濾液の少量を試験の腹腔内に投与し、Sarkomycin の分裂癌細胞に対する作用と比較したが、この大腸菌濾液の製法については別項で改めて述べる。

ii) 実験成績

図 3 及び表 2 には Sarkomycin 及び大腸菌濾液投与後における Ehrlich 腹水癌分裂細胞数の変動を示した。

Sarkomycin 1mg を投与したものでは、2 時間後に分裂癌細胞数がやや減少して来る。しかしその後には漸次増加して、8 時間後にはかえってその数が著しく増し、投与前の値の約 2.5 倍に達し、その後漸減して 18~28 時間後にはほぼ術前値に復帰した。

Sarkomycin 3mg を腹腔内に投与した動物の腹水中分裂癌細胞数は 2 時間後に著しく減少し、投与前数の約 1/3 まで減り、8 時間後においても依然減少したままで術前値の約 1/2 を数えるのみである。しかしその後の分裂癌細胞数は徐々に投与前にかえり、著しい増加を示すことなく 18 時間ないし 28 時間後に正常値に復帰した。

Sarkomycin 3mg 腹腔内投与後の分裂癌細胞の形態学的変化を染色標本から追求したところ、分裂癌細胞数が著しく減少した 2 時間後には、細胞質の著明な収縮、染色体の凝集などの異常像がみられたが、8 時間後にはもはや高度の分裂障害像がみられず、たゞ稀に軽度の分裂異常、たとえば分裂終期における染色体の橋形成(写真 8)を残すのみとなり、18 時間後には異常分裂像を全く見出しえなかつた。それゆえ Sarkomycin は一時的に癌細胞の分裂を障害するが、しかもその効果は一過性であつて、比較的

短時間のうちに消失するものと思われる。

37°Cのフラン器内に3時間半放置した Sarkomycin 溶液をマウスの腹腔内に投与した場合には、その後における腹水中の分裂癌細胞数は常に投与前の値と大差がない。すなわち加温された Sarkomycin は癌細胞の分裂に対して全く影響を与えないものと思われる。

大腸菌濾液 0.04cc を腹腔内に投与したマウスの腹水中分裂癌細胞数の変動を図中の太い点線で示した。このときには Sarkomycin 3mg 投与時と同じように、投与後2時間目に著明に減少したが、8時間後にはかえつて分裂癌細胞数が増加し、術前値以上の値を示した。

3. 小括並びに考按

Ehrlich 癌細胞に対する Sarkomycin の直接作用は、私が実験した投与量の範囲内では、遊走細胞に対して著明でなく、癌細胞特に分裂期にあるものに重大な障害を及ぼすものである。従つてこの点からみれば Sarkomycin は比較的選択的な分裂毒であるといえよう。しかし Nitrogen mustard や Colchicine が示すような特有な分裂障害像をみることができなかった³⁴⁾。

また分裂癌細胞数の推移からみると、Sarkomycin の分裂期癌細胞に対する直接作用は比較的一過性であつて、8時間後にはその作用が消失し、癌細胞は再び正常の分裂を営むに至るものと考えられる。石山 (1955)³⁵⁾らも Sarkomycin 1回投与後の Ehrlich 癌細胞中の有糸分裂細胞数を数え、8時間以後には投与前の有糸分裂細胞数とほぼ同じ値に戻ることを報告している。

大腸菌濾液注射後の分裂癌細胞数の変動は、Sarkomycin 3mg 腹腔内注射時のそれとよく似ている。すなわち投与後直ちに分裂癌細胞数が著しく減少し、短時間のうちに正常値に復帰するのであるが、この結果からみると、大腸菌濾液も一過性に癌細胞に対して直接的な分裂阻害作用を発揮することがわかる。ところがもともと大腸菌濾液の抗腫瘍性は古くからみとめられたところであつて、腫瘍組織内の出血を誘導する作用があると報告せられ¹⁷⁾、しかもこの出血作用は Schwartzman 現象によるものと考えられて来た。他方 Sarkomycin にも腫瘍組織内に出血ないし壊死を起させる作用があり、これについては後に詳述するが大腸菌濾液とよく似た性質をもっている。

こゝに興味のあることは Sarkomycin の少量を腹

腔内に投与したときにあらわれる分裂癌細胞数の変動である。実験でえられた結果からみると、Sarkomycin 1mg 投与後には癌細胞の分裂が著しく促進されている。すなわち Ehrlich 癌細胞は少量の Sarkomycin によつてその發育を抑制されないのみならず、かえつて増殖を促進される時期があるのであつて、このような事例を他の薬剤についても求めうる。たとえば抗生剤の検体内濃度を重層法によつて測定するに当り、重層された薬剤が試験菌加培地内に滲透し、その含有濃度に応じて菌發育阻止帯を作る際、菌發育阻止帯の先端にあられる菌發育刺激帯と呼ばれる現象がある⁴³⁾。これと軌を一にして少量の Sarkomycin によつて、かえつて癌細胞が刺激され、その發育増殖が促進されるのではあるまいかと考えられる。

なお正常マウスの尾静脈内へ Sarkomycin 3mg を5回注射した上で撲殺し、精査してみたところ、写真9にみられるようなリンパ節を見出すことができた。すなわちこのリンパ節では辺縁洞が完全に消失して、明らかにリンパ球が著しく増殖し、そのうちには多数の有糸分裂像をみることができる。さらにこの実験を裏書きするものとして、Sagawa ら (1955)⁴⁴⁾の報告がある。彼らはラッテに Sarkomycin の少量を5箇月間にわたり皮下に注射した後放置していたところ、1年後注射部位に線維肉腫の発生していることに気づいた。

これらの事実は少量の Sarkomycin が癌細胞ないし一部正常細胞の發育をかえつて促進し、時には健康動物に対して、発癌物質ともなりうる可能性を示すものである。

ともあれ Sarkomycin の Ehrlich 腹水癌細胞に対する作用は比較的短時間しか持長しないのであつてこの点からみると Alkylating agents や Anti-metabolites に属する薬剤とは異り、Sarkomycin は腫瘍細胞に対して直接的に作用して、その既存の原形質構成蛋白を変性せしめる薬剤であると考えなければならない。

第4章 Sarkomycin の血管系に対する作用

1. 悪性腫瘍組織内血管系に関する文献的考察並びに附加実験

Apitz (1933)⁹⁾はマウスに Ehrlich 癌を移植すると、移植した癌腫瘍の周囲に血管が新生増殖するのを

みとめ、また Algire and Chalkley ら (1945)²⁰も腫瘍の増殖速度は血管新生の程度に比例することを、窓函法を用いて実験的に観察している。すなわち腫瘍内血管系は腫瘍の増殖と当然密接な関係をもっているのであるから、抗腫瘍剤の研究に当つては腫瘍の血管系に及ぼす作用をも充分検討されねばならないと思われるのであるが、従来の抗腫瘍化学療法の研究には、この分野が案外等閑に附せられていた感がある。

Willis (1948)²¹はその腫瘍病理学のみで、悪性腫瘍組織の栄養血管を組織学的に観察した結果、腫瘍組織にそぐ栄養血管は著しく増殖し、かつその内径が大きく、同量の正常組織に到達する血液量に比べると、腫瘍組織内にはより大量の血液が灌流していることを記載している。

Bierman ら (1951)²²はさらに悪性腫瘍組織内に蛍光色素を導入して、腫瘍内血管系の態度を検討している。すなわち18名の患者を用いて、5% Fluorescence を腫瘍の栄養動脈内に直接注射したところ、一般に悪性腫瘍組織では注射後直ちに蛍光色素が透過して来るが、正常組織ではこれが殆んどあらわれて来なかつた。また腫瘍組織内では蛍光の発現度合が時間の経過とともに漸次増強するが、ヒスタミン水泡や正常皮膚内では、一旦透過した蛍光色素が直ちに消失してしまうことを観察した。それで蛍光色素の示す以上の2つの態度から腫瘍組織内では血管系が著しく増殖しており、かつかように増殖した血管系の壁透過性が著しく亢進していると結論した。

同じく Duran-Reynals (1938)¹⁹は異種血清を静注した後、抗原抗体反応を応用して腫瘍組織内血管の透過性が著しく亢進していることを実験的に立証しており、このほか悪性腫瘍組織内の血管増殖並びに血管壁透過性の亢進をみとめている文献はかなり多い。

それで私も腫瘍組織内血管壁透過性とこれに対する Sarkomycin の影響を観察するために、つぎのような2つの実験を行った。

実験1:

実験材料と方法

マウスの側腹部に Ehrlich 癌腫瘍を作り、2週間放置して、結節が充分大きくなるのをまち、尾静脈から墨汁0.3ccを注入⁵⁴⁾、1時間後に撲殺して腫瘍を摘出し組織標本を作つた。

実験成績

写真10にみられるように腫瘍組織のうち特に壊死

部に移行する境界部に近い間質内の血管壁に多量の墨汁が附着しているのがみとめられた。

実験 2.

実験材料と方法

マウスの側腹部皮下に Ehrlich 癌を移植し、2週間後この移植腫瘍が約小指頭大にまで発育した時期を選んで、尾静脈から蛍光色素を結合した牛血清アルブミン (京大病理学教室浜島氏の好意による) 0.5ccを注射した。そして1時間後に撲殺、腫瘍組織を剔出して病理組織標本を作製し、蛍光顕微鏡によつて観察した後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、同拡大で同一部を撮影比較した。

実験成績

写真11にみられるように癌腫の間質に蛍光色素が多量に透過しているのをみとめることができる。

以上の2つの実験成績から考えると、多くの先人の報告した如く、腫瘍内血管系では常にその壁透過性が亢進しているものと思われる。

2. Sarkomycin の有効な臨床例における考察

臨床上 Sarkomycin を悪性腫瘍患者に投与した結果、臨床症状が好転したと思われる症例では、腫瘍組織自体及び転移腫瘍内に高度の出血ないし壊死を惹起していることがある (石山1954²³⁾、円山1955²⁴⁾)。

私たちの教室でも昭和29年及び30年度中、悪性腫瘍患者に対して Sarkomycin 治療を試みたが、そのうち臨牀症状の改善に伴い、腫瘍組織内に広汎な出血及び壊死を招来したつぎのような胃癌の1症例を経験した。

症 例

78才、男子、来院時高度の貧血を示し、Virchow 氏リンパ節は拇指頭大に硬く腫脹、腹部は蛙腹を呈して、高度の腹水蓄積がみとめられ、腹壁皮膚には大豆大、板様硬の小結節を多数触知された。深触診を行うと、上腹部には驚卵大、板様硬の腫瘤をふれ、軽度の移動性がみとめられ、また肛門内指診により、ダグラス氏窩が板様に硬結していることを発見した。

試験開腹を行つたところ、淡黄色の混濁した腹水が多量に噴出し、胃の小彎側で幽門に近く、大人手拳大の主腫瘤が存在し、腹膜には体側並びに内臓側ともに帽針頭大の癌転移が多数みとめられ、大網及び小腸間膜にもやはり多数の転移結節があつて、骨盤腔内の Schnitzler 氏転移も高度であつた。

それで他日における幽門の通過障害を予想し、胃空腸吻合術を行つて閉腹、その後は Sarkomycin 治療

に移つた。

すなわち Sarkomycin ははじめ 1日 1g を投与し、2週毎に 1g を増して 1日投与量を 4g にまで増量、58日間で総量 162g を用いた。

すると投与開始後まもなく注射後の爽快感があらわれ、食欲も著しく亢進し、腹壁皮下に触知された小結節は漸次軟化して、Sarkomycin 投与開始 3 週(約 30g) 後には、腹壁の転移結節が消失してしまい、腹囲も減少した。しかし Virchow 氏リンパ節転移はやゝ縮小したかに触知されたのみで、上腹部の主腫瘍は増大した。それで Sarkomycin をさらに増量して 1日 4g を投与したところ、その頃から注射後悪寒を伴う高熱を発するようになり、患者の一般状態が悪化して、心衰弱のもとに Sarkomycin 投与開始後 59 日目、休薬翌日ついに死亡した。

剖検の結果、多量の腹水はやゝ血性で、胃の主腫瘍は超大人拳大を呈し、開腹時所見と大差がなかったが、非常に軟くなつていて、これを割切すると腫瘍内は著明な壊死巣を形成していた。体壁腹膜の癌転移は殆んどみられないが、後腹膜転移及び Schnitzler 氏転移はそれぞれすべて増大し硬くふれた。

写真13及び14は本症例の剖検時に採取された胃腫瘍の組織標本であるが、いずれにおいても高度の出血及び壊死が見出される。

元来癌腫はその自然経過のうちでも末期になると出血ないし壊死を起すものである。しかし Sarkomycin によつて惹起された腫瘍内の出血ないし壊死は比較的高度であつて、石山ら(1955)²⁷⁾はこれを Sarkomycin 投与によつて起つた比較的特異な変化とみるべきであるといつてゐる。

また同じ事実をつぎのような Sarkomycin の大量投与症例から求めることができる。

写真15は104日間に Sarkomycin 150g を投与されて死亡した胃癌患者の剖検時にえられた脾の所見であつて、こゝには動脈栓塞による脾硬塞像をみることができる。またこの症例の肝には、写真16に示すような肝小葉中心静脈における硝子様血栓形成がみられる(本症例は関西配電会社病院外科大津章博士の御好意によつてえられた³⁷⁾)。

またマウスの尾静脈から Sarkomycin 5mg を 1日 1回、5日間、総計 25mg 注射した後撲殺して精査してみると、写真17のよう、著しい肺内出血をみることもある。

以上にのべた病変はすべて血管系の変調、もしくは障害によつて惹起された変化であるから、これから Sarkomycin が血管系に対して何らかの特異な作用を示すものではあるまいかと想到される。

3. Sarkomycin の血管壁透過性に及ぼす影響

実験 1: 正常組織内血管壁の透過性に与える Sarkomycin の影響

マウスに全身性に 200r のレ線照射を行つた後 30 分を経た後尾静脈より墨汁 0.3cc を注入してみると、写真18にみられるように、レ線照射によつて腸管壁血管の透過性が亢進するために、多量の墨汁が血管壁に附着して腸管を黒染するのを見とめることができる。

しかしこのレ線照射を行う 1 時間前に、予め Sarkomycin 10mg をマウスの尾静脈から注入しておいた上で、同じ実験を行うと、墨汁は腸管壁に全く附着せず、無処置の腸管壁と同じ反応を呈した。

実験 2: 悪性腫瘍組織内血管壁の透過性に与える Sarkomycin の影響

マウスの側腹部皮下に Sarcoma 180 を移植すると約 10 日後には約拇指頭大にまで発育する。この時期にマウスの尾静脈から Sarkomycin 3mg 及び比較的目的で Nitrogen mustard N-oxide 0.5mg を注射し、その後 1 時間を経て墨汁 0.3cc を再び尾静脈から注入した。なお対照としては無処置の腫瘍移植マウスに墨汁のみを同量静注したが、墨汁静注後 1 時間目にすべてのマウスを撲殺して腫瘍を摘出し、その組織標本作製、観察した。

写真19及び20は墨汁注入前に Sarkomycin 3mg を投与したマウス腫瘍の組織標本であるが、全視野にわたつて、多量の墨汁粒子が血管壁に附着している像をみることができる。これに対して Nitrogen mustard N-oxide を投与したものでは、腫瘍組織内における墨汁粒子を殆んどみることができず、対照無処置マウスの腫瘍には中等量の墨汁が血管壁に附着しているのがみられた。

小 括

実験 1 で観察された如く、レ線照射によつて起る腸管壁の血管壁透過性亢進を Sarkomycin が完全に抑制することからみて、正常な血管系に対しては Sarkomycin が血管壁透過性を抑制する方向にはたらくものと思われる。

けれども腫瘍組織内血管系のような特殊状態にある血管系に対しては、実験 2 でみられた如く正常時と

反対に、血管壁透過性を亢進せしめるのではないかと考えられる。

4. Schwartzman 現象に対する Sarkomycin の影響

1931年 Gratia and Linz¹⁷⁾ は大腸菌濾液を腫瘍移植動物に注射すれば、腫瘍組織内に広汎な出血ないし壊死の起ることをみとめた。勿論大腸菌濾液は高度の Schwartzman 因子をもつものであるから、彼等はこの悪性腫瘍組織内に惹起された出血ないし壊死は Schwartzman 現象と全く同じ機転によつて起つたものであると考えた。

ところが Sarkomycin 投与によつて惹起される悪性腫瘍組織内の出血及び壊死は、あたかも Gratia and Linz らの行つた大腸菌濾液注射に由来する腫瘍内出血壊死とよく似ている。

それでは Sarkomycin ははたして Schwartzman 因子をもっているのだろうか。私はこの想定のもとに、はじめ Sarkomycin を家兎に注射して頻回の実験を行つたのであるが、Sarkomycin 自身によつては、結局 Schwartzman 現象を起すことができなかった。ところがこの実験中に、つぎのような興味ある事実に遭遇するに至つたので、こゝに詳述を試みたい。

i) 実験材料

実験動物としては 2kg の白色、雄性家兎を用いた。

大腸菌濾液はつぎのような方法で精製した。使用大腸菌は *Escherichia coli communis* (本学細菌学教室より分与された) で、ルー培養瓶で 18 時間培養後、Berkefeld V で濾過、低温沸騰させて濃縮精製した。

大腸菌濾液については、当然 Schwartzman 現象を惹起させるのに必要な反応単位を測定する必要がある。それで種々検討した結果、上のように作製した大腸菌濾液はこれを 2 倍に稀釈して、準備注射に 0.2cc 惹起注射に 2cc を用いれば、家兎に Schwartzman 現象 IV 度の反応を確実に起すことができることを識つた。

写真 21 は自家作製大腸菌濾液を用いて Schwartzman 現象を惹起した家兎の腹壁皮膚における出血ないし壊死の像である。

ii) 実験成績

実験 1.

はじめ剃毛した家兎の腹壁皮内にツベルクリン用注射器を用いて、大腸菌濾液の原液 0.2cc を注射しておき、ついで 24 時間後に惹起注射を行えば、Schwartzman 現象が当然起つて来るわけである。ところがこの惹起

注射を行う 2～3 時間前に Sarkomycin 0.5g を家兎の耳静脈内に注射しておいてから皮内注射を行つたのち 24 時間目に惹起注射として大腸菌濾液 2cc を再び耳静脈内に注射した。するとその結果は写真 22 にみられるように、皮内注射を行つた部分には Schwartzman 現象として起るべき壊死は勿論のこと、出血すらも全く起らなかったのである。

実験 2.

さらに他の家兎を用いて、準備注射、惹起注射ともに、4 倍に稀釈した大腸菌濾液の 0.2cc 及び 2cc をそれぞれ皮内及び静脈内に注射し、家兎の腹壁皮膚に起る Schwartzman 反応を第 II 度程度に止めておき、惹起注射後にあらわれる軽度の Schwartzman 反応が充分発現されるのを待つて (惹起注射後 2～3 時間後)、Sarkomycin 0.5g を家兎静脈内に注射した。写真 23 はこのときにあらわれた家兎腹壁の出血及び壊死を示したものであつて、準備注射として行つた皮内注射の周辺に極めて広汎な出血、壊死巣の発現をみとめることができる。

iii) 小 括

元来 Schwartzman 現象では準備注射後 24 時間目に惹起注射を行うのが常であるが、予め準備注射の前後 2～3 時間のうちに同一細菌濾液を附加的に静脈内に与えておくと、たとえ 24 時間後に惹起注射を行つても Schwartzman 現象が起つて来ない。この現象は Gross・緒方氏抑制反応³¹⁾ とよばれている。この抑制反応を起す物質は、必ずしも同一濾液でなくともよく、Schwartzman 因子をもっている活性物質ならば、いずれでも Schwartzman 現象を抑制することができる。

実験 1 でみられた通り、Sarkomycin は惹起注射に続いて起る Schwartzman 現象の出血反応を明らかに抑制したが、これは Gross・緒方氏抑制反応と類似する反応であると解釈される。

また実験 2 でみられた通り、Sarkomycin には Schwartzman 因子がないにも拘らず、軽度の Schwartzman 現象に対しては、出血ないし壊死を促進させる役割を演じた。勿論この場合の出血、壊死は Schwartzman 反応とは異り、皮内注射部位には起らないで、その周辺に輪状に起つている。

第 5 章 総括並びに考察

悪性腫瘍に対する現今の化学療法剤には多くの種類があつて、その抗腫瘍性がいかなる機転によつて発揮

されるかはそれぞれ明らかにされている。しかし微生物が産生する物質のうちでも、抗腫瘍性物質と称される薬物については、その作用機序がまだ明らかでない。

Sarkomycin の腫瘍細胞に対する直接作用は、その分裂期にあるものに比較的選択的にはたつき、分裂障害を惹起するが、その作用時間が短く、かつ軽度であつて、Nitrogen mustard や Colchicine の抗細胞作用とは比較にならないものである。

また Sarkomycin はこれを生体に用いても、造血組織に対して全く障害を与えず、大量をかつ長期間にわたつて連用しても、白血球数の減少を来さないのが特徴であるとされている。今日腫瘍細胞と正常細胞の間には根本的な差異がみつめられず、悪性腫瘍細胞毒となる物質は分裂の盛んな体細胞に対しても、ともに毒性をあらわして来ると思われる。この点からみると Sarkomycin の作用点は他種抗腫瘍剤と大いに異なる筈である。

ところが前述の如く Sarkomycin は腫瘍組織内に著明な出血ないし壊死を招来する特殊な作用を示したのであつて、かような腫瘍組織内血管系に対する作用が Sarkomycin の抗腫瘍性のなかでも、その主軸をなすものではあるまいか。

微生物または微生物の産生物質によつて悪性腫瘍を治療しようと試みた歴史は古い。

1868年 Busch²⁾は肉腫患者にたまたま丹毒の感染が併発したために、肉腫の臨牀症状が著しく好転した症例を観察し、他の悪性腫瘍患者に対しても丹毒を併発せしめて悪性腫瘍を治療しようと試みた。さらに1882年 Fehliessen¹⁴⁾は丹毒の起炎菌である連鎖球菌を分離して、その生菌を悪性腫瘍患者に注射したところ、臨牀症状の軽快をみたと報告したが、その後も各種の微生物が悪性腫瘍治療に効くことが報告されている。

ところがこのような微生物、またはその死菌、細菌濾液を用いて悪性腫瘍を治療すると、腫瘍組織内に出血ないし壊死を起すので、こゝに Schwartzman 現象が再確認され、細菌濾液の悪性腫瘍に対する作用が再検討されるに至つた。1931年 Gratia and Linz¹⁷⁾が大腸菌濾液を、肉腫を移植したモルモットに注射したところ、腫瘍組織内に広汎な出血が起つたのをみて、これは Schwartzman 現象と同じ機作によるものと発表し、また本邦においても福田及び永島ら(1940)¹⁶⁾は大腸菌濾液が Schwartzman 現象と同じ機作によつて実験腫瘍内に出血ないし浮腫を起させ腫瘍

の發育を阻害することを発表している。

実験腫瘍に対して拮抗作用を示す微生物と報告されているもののうちでも、Coley's toxin 及び Shear's polysaccharide は比較的有名で、数年間にわたり悪性腫瘍患者の治療に用いられたことがある。

Coely's toxin は連鎖球菌と霊菌の死菌混合液であるが、Nauts, Coley (1946)³²⁾はこれを臨牀上に応用すると、患者の腫瘍組織内に出血ないし壊死を起し、著明な抗腫瘍効果があつたと報告している。その後 Shear (1943)¹⁸⁾は霊菌から腫瘍組織内に出血をもたらす成分を追求して、多糖体を分離した。このものは強い Schwartzman 因子をもつており、その0.1%で動物肉腫の50%において強い出血が起ることを確め、臨牀上にも応用した。すなわち4名の末期悪性腫瘍患者に用いて、2名に臨牀症状の好転がみられ、死亡剖検の結果は腫瘍組織内に出血、壊死の起つていることをみとめた。

また Ikawa ら(1951)³³⁾は大腸菌から Schwartzman 発現因子を取り出し、これがリポ多糖体で発熱物質であることを明かにしたが、この物質もやはり腫瘍組織内に出血を惹起する。

以上のような微生物そのもの、またはその濾液などの抗腫瘍性に関する記載は数多く³⁴⁾、しかもいずれも腫瘍組織内の血管系に対して特異的にはたつき、出血を起させるものである。

さらに Antopol (1937)²⁰⁾は腫瘍組織を95% Alkohl で処理して抽出液を作つたが、この腫瘍抽出液自身もまた Schwartzman 現象の準備及び惹起能力をもつていることを確認した。このことは悪性腫瘍組織が常に Schwartzman 現象に対して準備状態にあることを示唆するものである。

腫瘍組織内では血管系が増殖し (Algire)²¹⁾、壁透過性は亢進し、かつ腫瘍の壊死部と増殖部との境界より出血し易い (Apitz)²²⁾。また腫瘍組織そのものが Schwartzman 因子をもつている (Antopol)²³⁾とすれば、腫瘍の血管系に対して特異的にはたらく薬剤を用うれば、腫瘍内に容易に出血することもうなずけるわけである。

私は以上の如く、Sarkomycin の血管系に対する特異作用についてくわしくのべたが、特に腫瘍組織のような特殊な血管系に対してその効果が著しい。その結果 Sarkomycin は腫瘍組織内に選択的に出血を起させ、それによつて腫瘍組織を壊死におち入らすもの

と考えられる。勿論 Sarkomycin には Shwartzman 因子がないが、Shwartzman 現象発現後の特殊な出血状態に対して、さらに著しい大出血を起させる作用がある。

それゆえ抗腫瘍剤のうちには、腫瘍組織の血管系に障害を与えて腫瘍組織への血液の供給を阻害し、組織を壊死におち入らしめて、二次的に腫瘍を崩壊してしまう Sarkomycin の如き作用機序をもつた薬剤のあることを強調したい。

第6章 結 論

1.) Sarkomycin の Ehrlich 癌に対する作用はその腹水型または結節型のいずれに対しても、4 種既知抗腫瘍剤 (Nitrogen mustard N-oxide, 8-Azaguanine, Desacetylmethylcolchicine, 6-Mercaptopurine) 及び Co⁶⁰ 照射のうちでもつとも有効であった。

2.) 腫瘍細胞に対する Sarkomycin の直接作用は

比較的選択的で、これを分裂毒とみなすことができるが、その作用の持長時間は短く、概ね 8 時間以内であった。

3.) Sarkomycin は正常な血管系に対してはその壁透過性を抑制するが、障害された血管壁に対しては、これを亢進させる結果出血を来させる作用をもっている。

4.) 悪性腫瘍組織内では、常に間質における血管壁の透過性亢進がみとめられるが、Sarkomycin はこの壁透過性をさらに亢進させるものと思われる。

5.) Sarkomycin の抗腫瘍性作用機序として腫瘍細胞に対する直接作用をまずあげることができるが、しかも悪性腫瘍に対する効果の主軸をなすものは腫瘍間質内血管系に対する作用であつて、これによつて腫瘍組織内間質に浮腫や出血を起させ、腫瘍組織の生活環境の悪化を招来し、或は栄養補給を阻害して、抗腫瘍作用をあらわすものであると考える。

後篇 Sarkomycin 耐性獲得に関する研究

第1章 緒 言

近時新しい抗腫瘍性抗生物質が相ついで発見せられその一部はすでに臨牀上に応用されて悪性腫瘍に対する治療界に新しい時代が訪れようとしている。しかし抗腫瘍剤を用いて悪性腫瘍患者を治療している間にはあたかも細菌性疾患の抗菌性抗生物質療法に際して、病原菌が耐性を獲得したのと同じような事態が起らないであろうか。これまで臨牀実地家は、はじめは比較的良好に反応していた悪性腫瘍が抗腫瘍剤投与中、または一旦休薬の後、同じ薬剤による化学療法を再開したとき、全く反応を示さないようになるとか、或は抗腫瘍剤の投与によつて腫瘍がかえつて増大し、臨牀症状の増悪することを屢々経験している。

日比野 (1955)²⁴⁾は 6-Mercaptopurine 及び Demecolcine を白血病患者に用いた結果、臨牀像及び血液像の好転を示した症例が漸次反応を示さなくなり、さらに薬剤を増量投与しても病像が増悪した数症例をあげている。

Fujii (1955)¹⁷⁾は Sarkomycin 投与中、前述と同じ経過を辿つた小児の悪性腫瘍例を経験して、対象となつた腫瘍細胞が Sarkomycin に対して耐性を獲得するのではなからうかと推測しており、また Nitromin

に関しても同様の報告がある (近藤ら, 1956)²⁵⁾。

けれどもかような臨牀例における耐性獲得の事実を実験的に解明した報告はまだ少く、Nitromin (広野ら 1954)²⁶⁾、Colchicine (Lettré, 1952)²⁷⁾、6-Mercaptopurine (Clarke, 1952)¹⁰⁾ 耐性株の報告をみるのみである。

それで私は Ehrlich 腹水癌を用い、マウスにおいて累代移植を行うと同時に、Sarkomycin を微量より投与しはじめ、漸次増量して 20 代に至つたところ、Ehrlich 腹水癌細胞が確実に Sarkomycin に対する耐性を獲得したと考えられる成績をえたので、ここに報告する。

また臨牀上 Sarkomycin 投与を行つているうちに漸次耐性を獲得したと思われる 1 肉腫例を経験しているので、これをも併せて報告する。

第2章 Ehrlich 腹水癌細胞の Sarkomycin 耐性獲得に関する実験的研究

1. 実験材料及び方法

Sarkomycin としては武田薬品工業株式会社で精製された M・T・14・A 及び M・T・14・B を用いたが、これは 1 バイアル中に 1g (力価) の Sarkomycin 結晶を含んでいる。これを 10cc の生理食塩水にとかし、こ

図4 累代移植

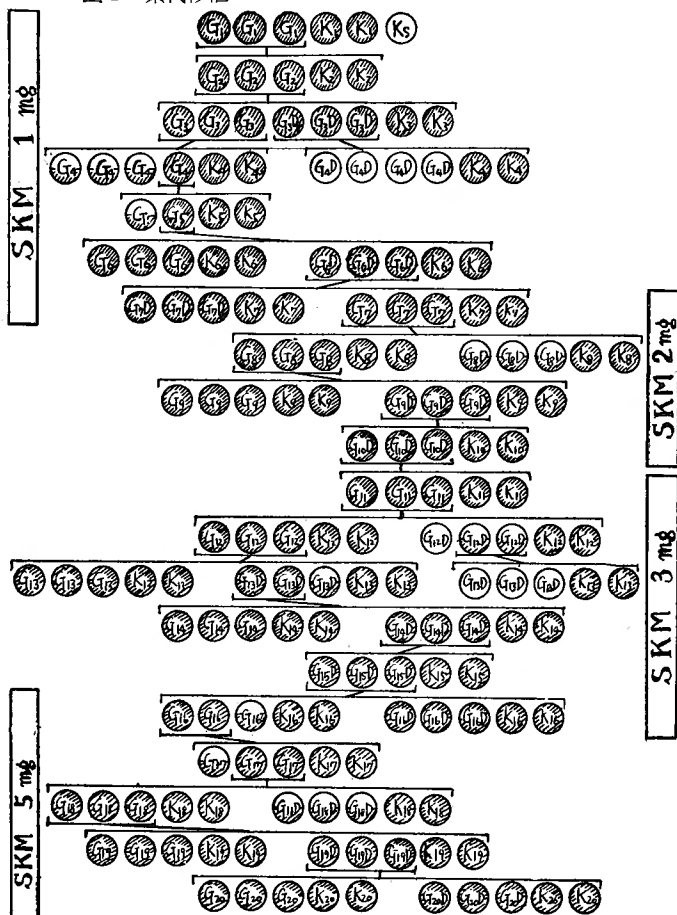
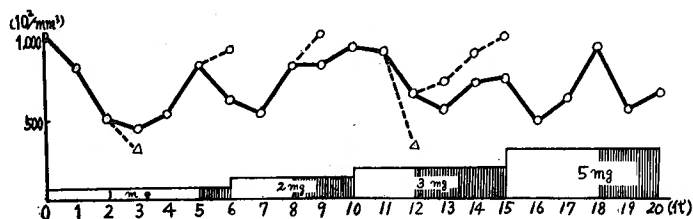


図5 累代移植時腹水中の Ehrlich 癌細胞数の変動



の原溶液を蒸留水でさらに適宜2～10倍に移釈した上で、所要量を正確に、連日14日間、マウスの腹腔内に注射した。

実験に用いたマウスはNA₂均一系の雄で、その体重が20±2gのものをを用いた。なお実験中マウスの飼料としては小麦、野菜、魚粉を与え、水道水を給水瓶で供給し、特に生理食塩水は用いていない。

また Ehrlich 腹水癌をマウスの腹腔内に移植する

場合、移植細胞数が常に8～10×10⁶個になるようにした。

被験マウスは移植前及び移植後、毎日その体重を測定し、腹水貯溜に伴う体重増加を記録し、また死亡時には剖検して腹水の貯溜程度を観察するとともに、マウスの生存日数をも記載した。累代移植を次代に行うときは、採取した腹水の一部をとり白血球算定用メランヂュールを用いて、腹水中に含まれる癌細胞数を計算するとともに、他方では腹水の塗抹標本を作つてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、休止期の癌細胞2,000個中の分裂癌細胞数を数え、さらに分裂癌細胞のなかに異常な分裂像を示すものがあるかどうかをも調べた。

なお累代移植第20代目マウスの腹水中の Ehrlich 癌細胞が確実に Sarkomycin に耐性を獲得したかどうかを確認するために、第20代目マウスの腹水の一部を採取した後、伸展標本を作り、位相差顕微鏡のもとで癌細胞の形態学的変化を追及したが、さらに Sarkomycin 5mgを投与して1時間後に再び腹水を採取し、位相差顕微鏡下で観察、比較した。すなわち

- 1.) 腹水中の Ehrlich 癌細胞数の減少度
- 2.) 分裂癌細胞数の変動
- 3.) 異常分裂像出現の有無
- 4.) 宿主の生存日数
- 5.) 腫瘍細胞の形態学的変化

の5項目について観察、検討を加え、

累代マウス腹水中の Ehrlich 癌細胞が Sarkomycin に対する耐性をえたかどうかを判定することとした。

2. 実験成績

累代移植の実験経過を示した図4のうち、記号 Gn のnは累代数をあらわし、Sarkomycin を移植後24時間目より投与しはじめたものであるが、記号 GnDは癌細胞移植後、直ちに Sarkomycin を投与しはじめ

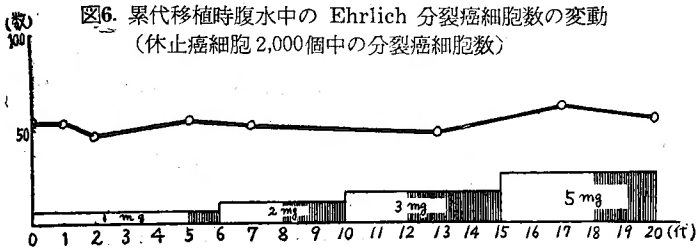
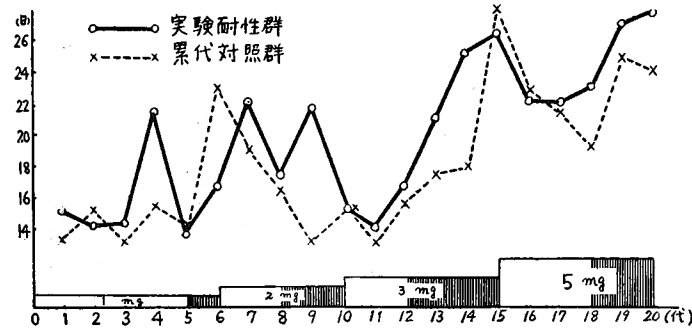


図7. 宿主の生存日数の推移



たものを示した。記号 Kn は前代より癌細胞を移植後 Sarkomycin を投与しなかつた一群を示しているが、以下これを累代無処置対照群とよぶ。また斜線でつぶした丸印は次代への移植時、著明な腹水貯溜のあつたことを示し、斜線で半分つぶした丸印はやゝ腹水の貯溜していたもの、斜線のない丸印は全く腹水を採取できなかつたものである。

Sarkomycin の投与量は左右の縦の枠内に示したが、記載されているように、その投与量は漸次増加し第19代目からは移植後に 5mg を投与しはじめている。

i) 累代移植時の腹水中癌細胞数の変動

図5の縦軸は腹水中の癌細胞数 ($10^3/\text{mm}^3$) をあらわし、横軸は次代に移植するため腹水を採取されたマウスの累代数をあらわしている。最下段の線で囲んだ部分はその時の Sarkomycin 投与量をあらわし、縦線を入れた部分はその投与量を移植直後に投与しはじめたことを示している。すなわち本図中の坐標点は下段の Sarkomycin 投与量を移植後24時間目または移植直後より投与しはじめ、14日間連日投与の後採取された腹水中の癌細胞数をあらわしている。

図で明かなように、腹水中癌細胞数は Sarkomycin 投与開始後著しく減少するが、同様の投与方法を繰返すと、癌細胞数は再び増加して来る。つぎに Sarkomycin の投与開始時間を早くするか、または投与量を

増加すれば、再び減少する。すなわち腹水中癌細胞数は投与量と並行して減少、増加の一つの波を画きつゝ、大量の Sarkomycin 投与後においても、もはや腹水中癌細胞は減少を示さなくなつて来ることが明らかになった。

なお図中下行を示す点線の枝は Sarkomycin を一累代繰り上げて投与した場合を示した。この枝から次代に累代移植し、Sarkomycin の同じ投与方法を行うと腹水は貯溜せず次代への移植が不可能になってしまう。また上昇を示す点線の枝は前代と同じ投与量と投与方法とを守つた一群である。

ii) 累代移植時の分裂癌細胞数の変動

腹水中分裂癌細胞数の数値を各代毎すべてにわたつて求めえなかつたが、図6に示すように1, 2, 5, 7, 13, 17, 20代とも休止期の癌細胞2,000個中の分裂癌細胞数は約50個前後ですべて正常の域値内にあつて、減少または増加を示したものはなかつた。

すなわち分裂癌細胞数は全代を通じて、常に正常値を示していると思われる。

iii) 異常分裂像出現の有無

前項を検討するために作製した標本について、分裂癌細胞中に異常像があるかどうかを調べた。

腫瘍細胞、殊に分裂期にあるものは固定、染色ともに難しく、細胞質の収縮、空胞形成などの所見がはたして Sarkomycin 投与のみによつて生じたものかどうかは明かでない。しかし時によると軽度の細胞質の収縮、空胞形成などが一応みられたほか、染色体が軽度に変化したものも見出された。けれども特に著明な分裂障害を起したものはなく、また巨細胞が増加したと思われる所見もえられなかつた。

iv) 宿主の生存日数

図7に示した通り、第14代以後は実験耐性群、累代対照群ともに生存日数がやゝ延長し、第20代では実験耐性群が平均28日の生存日数を記録し、また累代対照群は平均24日の生存日数を示した。

一般に Sarkomycin の投与量を増加した世代及び

同じ投与量を移植直後に投与しはじめた世代では生存日数がやゝ延長しているが、これは当然のことと思われる。

v) 第20代目腹水中癌細胞の形態学的変化

写真24及び25は第20代耐性 Ehrlich 癌細胞の位相差顕微鏡像で、これは Sarkomycin 5mg 14日間の注射を終了した後、24時間後に採取したものであるが、軽度の細胞質収縮に伴う偽足様突起の形成がみられるにすぎず、糸粒体像は正常で、変性したと思われる癌細胞は他にも全くみられない。分裂癌細胞は染色体がやゝ収縮しているようにみえるが、染色体はこれを1本ずつ明かに識別しうる。

写真26はこの20代耐性マウスの腹腔内にあらためて Sarkomycin 5mg を注入し、1時間後に採取した腹水であるが、癌細胞の細胞質は軽く収縮し、細胞の周囲に小顆粒状の突起がみられる。原形質の位相差がやゝ濃く、脱水状態を思わせるが、糸粒体の膨化像はやはりみられない。核の形態は正常で、核網像がやゝ増加しているかに思われるが、核仁像には異常所見がみられない。分裂癌細胞も同じように細胞の周囲に小突起を出し、染色体が3つの塊に凝集しているが、やはり染色体を明かに区別することができる。

3. 小 括

Ehrlich 腹水癌をマウスの腹腔内に移植し、Sarkomycin を1mg から投与しはじめて、その腹水中の癌細胞数及び分裂癌細胞数を算定しつつ、異常分裂像発生の有無を検討し、癌細胞が投与されたSarkomycin に耐性になったと考えられたとき、漸次Sarkomycin の投与量を増加して、第20代に至るまで累代移植をつづけた。

その結果第20代マウスでは、Sarkomycin 5mg を癌細胞移植直後から投与しはじめ、14日間連日投与しても、腹水中癌細胞数は $650 \times 10^3/\text{mm}^3$ を数え、分裂細胞数もほぼ正常値を保ち、かつ異常分裂像は全くみられなかった。

さらにこの20代マウスの腹水中の癌細胞を位相差顕微鏡下で観察したところ、ほぼ正常像を保ち、かつこのマウスの腹腔内に Sarkomycin 5mg 投与後1時間目に採取した腹水の位相差像においても、癌細胞の著明な形態学的変化はみられず、正常 Ehrlich 癌細胞に Sarkomycin 1mg を作用せしめたときの変化よりもさらに軽微なものでしかなかった。

以上の所見から、Sarkomycin 投与と累代移植に

よつてえられた第20代目マウスの腹水中 Ehrlich 癌細胞は Sarkomycin に対して明かに耐性を獲得したものと考えられる。ただしこの場合、癌細胞が Sarkomycin 耐性を獲得するにつれて、すなわち累代移植を重ねるに伴い、宿主の生存日数が次第に延長する傾向を同時にみとめることができた。

第3章 Sarkomycin に耐性を獲得したと思われる1肉腫症例

i) 症 例

西○, 56才, 男子。

主訴: 左腰部の無痛性腫脹

現病歴: 昭和28年左腰部にはじめて無痛性腫脹を生じて次第に大きくなり、昭和29年初頭には大人手拳大になつた。同年6月頃から腰痛を覚えるようになり、さらに歩行が困難となつて来たので、12月14日大阪関西配電病院を訪ねたところ、肉腫と診断され、同時に胸部のレ線撮影の結果、右肺下野に転移のあることを指摘(写真27)されて、レ線深部治療をすすめられた。それで外来通院して同日から直ちに背部腫瘍に対してレ線治療を受けはじめたが、腫瘍は縮小せず増大の一途を辿り、また昭和30年2月2日の胸部レ線像では、胸部の転移病巣も背部腫瘍と並行して増大していることがわかつた。レ線深部治療は昭和30年4月5日まで継続、同年4月6日上記病院に入院するに至つた。

既往歴: 生来著患を知らない。

家族歴: 特に悪性腫瘍の素因は認められない。

入院時全身所見: 体格中等度、栄養やゝ悪く、骨格筋肉の發育は尋常であるが、皮下脂肪組織の發育が悪く、皮膚及び可視粘膜はやゝ貧血状蒼白であつた。全身いづれにも浮腫及びリンパ節腫脹をみとめられない。その他胸部、腹部ともに理学的異常所見はみとめられない。

局所々見: 左腰部に第10肋骨の高さから左腸骨稜に至る約小児頭大の腫瘍があり、下方に約クルミ大の娘。腫瘍をもつている。腫瘍中心部から娘腫瘍にかけて皮膚は livid に着色し、腫瘍の周囲には皮下静脈の怒張をみとめられる。局所には熱感を伴い、弾性軟で、表面平滑、頭側境界は不明瞭であるが、左右及び尾側は明かな境界を触知され、尾側に近く偽性波動を呈した。圧痛は全くなく、腫瘍は基底から全く動かず皮膚との移動性もない。

赤血球数 280 万, 血色素量 75% (ザーリー値), 白血球数 7,800, 白血球分類では好酸球が 26.9% を占めていたが, 糞便の潜血反応はベンチジン法で陽性で, 多数の十二指腸虫卵を発見された。

本症例の腫瘍の組織学的検査を行えなかつたが, 臨牀像及びレ線像から背部の腫瘍は肉腫であろうと思われ, かつ肺転移を起したものと考えられる。

治療経過: 入院前昭和 29 年 12 月 14 日から昭和 30 年 4 月 5 日までの間, 左腰部の腫瘍に対しレ線深部治療を行い, 41 回, 総計 4,049r を照射されている。

4 月 6 日入院後直ちに Sarkomycin (武田薬工 M. T. 14. A) 治療をはじめた。すなわち初回より 2g を投与し, 4 月 22 日まで 17 日間にわたり 1 日量 2g を維持したが, なんらの副作用をも示さず, 4 月 23 日から 3g に増量し, 5 月 7 日まで 15 日間連日投与の上, さらに 5 月 8 日から 5 月 24 日まで 17 日間は 1 日 4g に増量した。この間副作用と思われる症状は全くあらわれずに経過したが, 薬剤の入手が困難となり, 5 月 25 日からやむなく投与量を 2g に減量して, 6 月 3 日まで連用した。ところが同日胸部レ線撮影の結果, 肺転移巣が再び増大しているのに気づいたので, 6 月 4 日 3g, 6 月 5 日 4g, 6 月 6 日 5g と増量した。しかし投薬後, 悪寒戦慄を伴って発熱するようになったため, Sarkomycin 投与を一時中止した。その後は 6 月 10 日 4g, 6 月 13 日 3g を投与したが, やはり同様の副作用があらわれ, 6 月 14 日患者は事故退院するのやむなきに至った。

なお Sarkomycin 投与と併用して, 入院中レ線深部治療が行われ, 26 回, 総計 2,389r を背部腫瘍に照射された。

それゆえ Sarkomycin は 64 日間, 総量 182g が投与され, レ線深部治療としては 67 回, 総計 6,438r が照射されたことになる。

ii) 検 討

この症例のレ線深部照射及び Sarkomycin 投与に伴う臨牀経過を主として背部腫瘍, 肺転移巣及び一般状態の変化の 3 点から観察, 検討してみたい。

背部腫瘍: 昭和 28 年発病後, 急激に増大してレ線深部治療開始時には大人手拳大以上に发育していた。その後入院時までのレ線深部治療は効果が全くなく, 昭和 30 年 4 月 6 日入院時には小児頭大 ($21 \times 13 \times 5 \text{ cm}^3$) に増大して来た。その後 20g の Sarkomycin 投与によつても $21 \times 14 \times 5 \text{ cm}^3$ で殆ど変りがなかつたが, 46g

投与後の測定では $19 \times 13 \times 3.5 \text{ cm}^3$ となつていて, やや縮小した。さらに 5 月中旬 100g 投与後には $18.5 \times 15 \times 4 \text{ cm}^3$ の大きさで, 腫瘍はもはや反応を示さなくなつた。その後腫瘍の大きさを測定されていないが, 退院時にはやや増大したように思われた。

肺転移巣: 写真 27 は昭和 29 年 12 月 14 日に撮影した胸部レ線像で, 右肺下野に 2 個の陰影があり, それぞれ約 $1.5 \times 1.5 \text{ cm}^2$, $3.0 \times 3.0 \text{ cm}^2$ の大きさを示している。当時はレ線治療のみに頼つていたが, 約 2 ヶ月後の昭和 30 年 2 月 2 日の胸部レ線像では, 右肺下野の陰影が著しく大きくなり, $1.8 \times 2.0 \text{ cm}^2$, $4.0 \times 3.3 \text{ cm}^2$ に増大したほか, 左肺下野にも大豆大の陰影が出現した。写真 28 は昭和 30 年 4 月 6 日入院時, すなわち 4,049r のレ線深部治療を受けた後の胸部レ線像であつて, 右肺下野の陰影は $2.3 \times 2.4 \text{ cm}^2$, $4.5 \times 4.3 \text{ cm}^2$ となり, 著しく増大している。

この日から Sarkomycin の投与を開始したが, 投与開始後 27 日目, 61g 投与後では写真 29 に示したような胸部レ線像で, $1.8 \times 2.8 \text{ cm}^2$, $4.0 \times 4.0 \text{ cm}^2$ となり, 著しく縮小しているのをみとめられた。これは背部腫瘍がやや縮小した時期とほぼ同時期である。ところが前述の如く, 5 月 25 日から Sarkomycin 投与量を減量したのであるが, 減量後 10 日目に再び胸部レ線像を求めてみると, 写真 30 に示したように, 右肺下野の陰影は $2.7 \times 2.7 \text{ cm}^2$, $4.5 \times 5.0 \text{ cm}^2$ と再び増大していることに気づいた。その後は前述の如く Sarkomycin 投与中止のやむなきに至り, 事故退院したために, 爾後の経過を追求しえていない。

臨床症状: 本症例は背部肉腫の増大に伴う腰痛及び歩行困難を訴えていたが, 腫瘍の肺転移に伴う呼吸器系障害, または全身的な訴えは全くない。それで治療効果の判定を臨牀症状に求めるとすれば, 前記の腰痛, 歩行困難の訴えのみである。

この 2 症状はレ線治療を行つている間は全く好転せず増悪するのみであつた。また Sarkomycin 投与によつても, これらの症状は好転しなかつたが, 特に増悪したとは思われなかつた。たゞ退院時近くなつて腰痛の増強を訴えている。

そのほかの臨牀検査成績については入院中著変をみしていない。

iii) 小 括

56 才男子, 背部肉腫と診断されてから約 4 ヶ月間レ線深部治療を受けたが, 背部の腫瘍及び肺転移巣は増

大の一途を辿り、入院の後、Sarkomycin 治療を行つた患者である。Sarkomycin 投与後まもなく背部腫瘍は縮少し、かつ胸部レ線像では、肺野の陰影像も著しく縮少して、明かに Sarkomycin が主腫瘍及び肺転移巣に対して有効にはたらいと考えられた。しかし Sarkomycin 投与量を減量するや忽ち背部腫瘍及び肺転移巣は再び増大し、その後はこれに反応せずこの腫瘍は Sarkomycin に耐性を獲得したものと思われた。

第4章 総括並びに考察

近来抗菌性化学療法剤ないし抗生物質の長足の進歩に伴い、これらの薬剤が広く臨牀上に応用されるようになり、殊に無批判に濫用される場合には、治療対象となつた病原菌が使用薬剤に対して、漸次耐性を獲得することが問題となり、これに関する実験的研究も少くない。しかし化学療法の対象が悪性腫瘍細胞の場合はどうであろうか。実験の困難と判定の難しさとかからさらには臨牀上悪性腫瘍細胞の耐性獲得を立証することが困難なためか、これまでには抗腫瘍剤に対する耐性獲得に関する報告が少いようである。

広野ら (1954)²⁰⁾ は吉田肉腫移植ラツテを用いて、Nitrogen mustard N-oxide を連続投与し、これに対して耐性となつた吉田肉腫株を作つた。そしてこの腫瘍細胞の薬剤に対する耐性は遺伝性のある不可逆的なものであり、しかも他の Alkylating agents に対しても同時に交叉耐性の成立することを立証した。

また外国文献では Lettré (1952)²¹⁾ が Colchicine 耐性となつたマウスの腹水癌を報告しており、Clarke ら (1953)¹⁹⁾ はマウスの Sarcoma 180 を用い、6-Mercaptopurine に耐性となつた株を作つている。

細菌が耐性を獲得する機序について今日まで2つの説¹⁾が行われている。その1は突然変異と選択説であつて、これは極めて少数の耐性菌が突然変異によつて出現し、その後薬剤の作用をうけた場合、大部分の感性菌はその発育を阻止されるが、少数の変異耐性菌のみが残り、これが増殖するに至ると説くものであるがこれに対して他は誘導変異説といわれるもので、細菌の遺伝形質が直接環境に影響されて、変異を誘導される結果、耐性を獲得してゆくと言くものである。

いま細菌を腫瘍細胞におきかえて考えてみると、腫瘍細胞が抗腫瘍剤に対する耐性を獲得することも当然類推できる。たゞ腫瘍細胞は微生物などと異り、短時

日の間に環境に直接影響されて、その遺伝形質に変異が起るとは考え難い。広野らの作つた吉田肉腫の Nitromin 耐性株はわずか100日間でえられているが、私の実験でえられた Ehrlich 腹水癌の Sarkomycin 耐性株の作成には約400日の長期時日を要した。この事実は400日の長期間に Sarkomycin 加培地の中で、Ehrlich 癌細胞が変異を誘導されたとも考えられる。しかし腹水中の癌細胞数の変動曲線にもみられた通り Sarkomycin 投与によつて一旦減少した癌細胞が1～2代の後には、直ちに増加し正常値に復帰している。これは Ehrlich 癌細胞のうちに、Sarkomycin 耐性をもつた少数の癌細胞が存在し、Sarkomycin 投与に伴い感性のある細胞は消滅してしまい、残つた耐性細胞のみが選択されて増殖して来るのではあるまいかとも考えられる。

もともと抗腫瘍剤に対する耐性獲得を実験的に検討する場合には、実験対象とされた試験の腫瘍の種類とこれに用いる薬剤の2つの因子が重つて複雑化する筈である。従つていまにわかに私のえた実験成績のみから、Ehrlich 癌細胞の Sarkomycin に対する耐性獲得の機作を解明することはできない。これは今後において研究決定されるべき残された問題であつて、私はたゞこゝに腫瘍細胞が抗腫瘍剤に対して明らかに耐性を獲得しうる事実のあることを強調するにとどめたい。

つぎに Sarkomycin 耐性となつたこれらの腫瘍細胞の毒力の問題であるが、これについても薬剤耐性となつた病原菌の場合とよく対比しうる。薬剤耐性を獲得した菌株の毒力については、感性菌株との間に差がないか、または低下すると報告されている。しかも現在までのところ、耐性株の方が感性株に比べて、その毒力が強いという報告にはまだ接していない。たとえば患者から分離された Streptomycin 耐性結核菌は治療前の感性株と比べて、その毒力に大差はなかつた

(小酒井, 1951)²²⁾ が、INAH 耐性菌では明かに毒力は低下していると報告したものが多い(北本, 1954)²³⁾。私の実験における宿主の生存日数の記録によれば、Ehrlich 癌細胞が漸次 Sarkomycin 耐性を獲得するにつれて、腹水が著しく澱溜するにも拘らず、宿主の生存日数が次第に延長してゆく傾向がみられた。勿論この事実のみによつて、私のえた Sarkomycin 耐性 Ehrlich 癌細胞の悪性度が低下したとはいえない。しかしこれは薬剤耐性腫瘍細胞の悪性度に関して

示唆に富む実験結果ではあるまいかと考えられる。

さらに臨牀上に抗腫瘍剤を投与して、その対象となつた悪性腫瘍が当該薬剤に対して耐性となつたかどうかを判定することは非常に困難である。こゝに記載した症例には、勿論実験的な根拠がないが、背部腫瘤及び胸部レ線の経過が Sarkomycin 投与によつて一時軽快し、その後の Sarkomycin 投与にも拘らず増悪したこれら一連の所見は、一応 Sarkomycin に感性的の腫瘍細胞が Sarkomycin 投与中に、漸次耐性を獲得し、ついには全く反応を示さなくなつたものと考えさせる事実である。

日比野²¹⁾は吉田肉腫を実験腫瘍として、Alanine nitrogen mustard と 6-Mercaptopurine を併用すれば、単独投与による耐性の発現を抑制しようとのべている。抗腫瘍剤に対して耐性を獲得した悪性腫瘍が示す感性感剤の探求は、さらに今後に残された問題である。

第5章 結 論

1.) マウス Ehrlich 腹水癌を用いて、Sarkomycin を投与しつゝ累代培養を重ねると、累代第20代に至り腫瘍細胞は確実に Sarkomycin に対して耐性を獲得した。この Ehrlich 癌細胞の Sarkomycin 獲耐性得機序は細菌のそれと軌を一にするものと考えてよく、また耐性獲得とともに腫瘍細胞の悪性度が減少する傾向を示した。

2.) Sarkomycin 治療中耐性を獲得したと思われる肉腫の1症例をこゝに報告した。

稿を終るに当り終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師白羽教授並びに現三重県立大学医学部病理学教室武田進教授に深甚なる感謝の意を捧げる。また本研究遂行に当り多くの臨牀材料を寄せられた関西配電会社病院外科大津章博士並びに御援助を頂いた教員各位に厚く御礼を申し上げます。

文 献

1) 秋葉朝一郎：化学療法における細菌の耐性。医学のあゆみ，13；250，1952。2) Algire, G. H. and H. W. Chalkley：Vascular Reactions of Normal and Malignant Tissues in Vivo. I. Vascular Reaction of Mice to Wounds and to Normal and Neoplastic Transplants. J. Nat. Cancer Inst., 6；73，1945。3) Andervont, H. B.：The Reaction of Mice and of Various Mouse Tumors to the Injection of Bacterial Products.

Am. J. Cancer, 27；77，1936。4) Apitz, K.：Ueber Blutungsreaktion am Impfcarcinom der Maus. Ztschr.f. Krebsforsch, 40；50，1933。5) Antopol, W.：The Use of Tumor Extracts in the Production of the Shwartzman Phenomenon. J. Infect. Dis., 61；334，1937。6) Barrett, M. K.：Anaphylaxis and Hemorrhage in Transplanted Tumors. J. Nat. Cancer Inst., 2；625，1942。7) Bierman, H. R. and K. H. Kelly：Studies on the Blood Supply of Tumors in Man. I. Fluorescence of Cutaneous Lesions. J. Nat. Cancer Inst., 11；877，1951。8) Brues, A. M. and M. J. Shear：Chemical Treatment of Tumors. X. Reactions of Four Patients with Advanced Malignant Tumors to Injection of a Polysaccharide from *Serratia marcescens* Culture Filtrate. J. Nat. Cancer Inst., 5；195，1944。9) Busch：(39. より引用) 10) Clarke, D. A., F. S. Philips et al.：6-Mercaptopurine：Effects in Mouse Sarcoma 180 and in Normal Animals. Cancer Research, 13；593，1952。11) Cornmann, I.：Survival of Normal Cells in Penicillin Solutions Lethal to Malignant Cells. Science, 99；217，1944。12) Connell：(39. より引用) 13) Duran-Reynals, F.：Localization of Foreign Proteins and Dyes in Neoplastic Growth. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 36；369，1938。14) Fehliessen：(39. より引用) 15) Fujii, R. et al.：Study on the Treatment of Malignant Tumors in Childhood with Sarkomycin. J. Antibiot., 8A；83，1955。16) 福田保，林鼎乾，永島能衛：細菌濾液注射による移植性腫瘍の退行現象の実験的研究。日外会誌，41；696，1940。17) Gratia and Linz：(39. より引用) 18) Hackmann, C.：Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Actinomycin C (HBF 386) bei bösartigen Geschwülsten. Ztschr. f. Krebsforsch. 58；607，1952。19) Hata, T. et al.：Carzinophilin, a New Tumor Inhibitory Substance Produced by *Streptomyces*. J. Antibiot. 7A；107，1954。20) 広野巖，横山千里：化学療法における悪性腫瘍の耐性発現。癌，45；496，1954。21) 日比野進：白血病の臨牀と治療。日血会誌，18；442，1955。22) Hooper：医学のあゆみ，21；175，1955。より引用。23) Ikawa, M. et al.：An Agent from *E. coli* Causing Hemorrhage and Regression of an Experimental Mouse Tumor. I. Isolation and Properties. J. Nat. Cancer Inst., 13；157，1952。24) 石館守三：癌化学療法剤（合成）の作用機序。第15回日本癌学会総会シンポジウム，1956。25) Ishiyama, S.：Clinical Observations of Some Malignant Tumors Treated with Sarkomycin, a New Anti-Tumor Substance. J. Antibiot. 7A；82，1954。26) Ishiyama, S. et al.：Further Obser-

vation upon the Cytostatic Effects of Sarkomycin: an Experimental Study on the Ehrlich Ascites Carcinoma in Mice. *J. Antibiot.* **8A**; 57, 1955. 22) 北本浩, 吉田文夫: 耐性結核菌とその毒力. *総合医学*, **11**; 222, 1954. 28) 近藤達平他: 制癌剤耐性腫瘍の研究. *日外会誌* **57**; 786, 1956. 29) 小酒井望: ストレプトマイシン耐性結核菌の毒力について. *医学と生物学*, **19**; 93, 1951. 30) Lettré, H. and W. Kramer: Ein gegen Colchicin resistente Abart des Mäuse-Ascites-Tumors. *Naturwiss.*, **39**; 117, 1952. 31) 円山一郎: 悪性腫瘍に対するザルコマイシンの使用経験. *日本医師会雑誌*, **34**; 630, 1954. 32) Nauts, H. C., W. E. Swift. and B. L. Coley: The Treatment of Malignant Tumors by Bacterial Toxins as Developed by the Late William B. Coley M. D., Reviewed in the Light Modern Research. *Cancer Research*, **6**; 206, 1946. 33) 大津章, 梅本義一: ザルコマイシンを大量使用せる胃癌剖検例2例. *外科*, **18**; 415, 1954. 34) Oboshi, S. et al: Experimental Studies on Chemotherapy of Malignant Tumors II. *J. Antibiot.* **8A**; 153, 1955. 35) Oboshi, S. et al: Experimental Studies on Chemotherapy of Malignant Tumors. III. *J. Antibiot.* **8A**; 156, 1955. 36) 緒方富雄: Shwartzman 現象の抑制について. *日病会誌*, **26**; 97, 1936. 37) 緒方富雄: 血清学の領域から. *河出書房*, 1949. 38) Porter, J. N. et al: Achromycin, a New Antibiotic, Having Trypanocidal Properties. *Antibiot. & Chemoth.*, **2**; 409, 1952. 39) Reilly, H. C.: Microbiology and Cancer, Therapy: a Review. *Cancer Research*, **13**, 821, 1953. 40) Sagawa, F. et al: Rat Sarcoma Produced by the Injection of Sarkomycin. *J. Antibiot.*, **8A**; 168, 1955. 41) 佐藤八郎: 癌の診断と治療. *医学書院*, 1955. 42) Shear, M. J.: Chemical Treatment of Tumors. IV. Properties of Hemorrhage Producing of B. coli Filtrate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **34**; 325, 1936. 43) Shear, M. J.: Chemical Treatment of Tumors. IX. Reactions of Mice with Primary Subcutaneous Tumors to Injection of a Hemorrhage Producing Bacterial Polysaccharide. *J. Nat. Cancer Inst.*, **4**; 461, 1944. 44) Shwartzman, G.: Reactivity of Malignant Neoplasms to Bacterial Filtrates. *Arch. Path.*, **21**; 509, 1936. 45) Stock, C. C. and H. C. Reilly et al: The Effect of Antibiotics upon the Growth of Sarcoma 180 in Vivo. *Cancer Research*, **13**; 684, 1953. 46) 武田進: 腫瘍細胞. *永井書店*, 1956. 47) Takeuchi, T. et al: Effect of Sarkomycin in Experimental Animal Tumors. *J. Antibiot.*, **8A**; 110, 1955. 48) 鳥居敏雄, 川上保雄: 血清中ストレプトマイシン定量法. *J. Antibiot.*, **2**; 719,

1949. 49) Umezawa, H., T. Takeuchi and K. Nitta: Sarkomycin, an Anti-Tumor Substance Produced by Streptomyces. *J. Antibiot.*, **6A**; 101, 1953. 50) Umezawa, H. et al: Studies on Anti-Tumor Substance Produced by Microorganisms. III. *J. Antibiot.*, **6A**; 147, 1953. 51) Umezawa, H. et al: Studies on Anti-Tumor Substances Produced by Microorganisms. IV. *J. Antibiot.*, **6A**; 153, 1954. 52) 梅沢英夫, 石山俊次: ザルコマイシン. *医学書院*, 1955. 53) Willis, R. A.: Pathology of Tumors. C. V. Mosby Company, 134, 1948. 54) 安井公夫, 山本寛: 病的血管透過性. *血液学会討論会報告* 永井書店, 第3輯 160, 1950.

写真説明

図版 I.

(1~4.) Ehrlich 腹水癌移植マウスに Sarkomycin (SKMと略記する) 投与後の癌細胞の位相差顕微鏡像.

1. 及び2, SKM3mg 1回投与後1時間目, 癌細胞の細胞質収縮と偽足様突起(矢印)形成像. 3. SKM 5mg 1回投与後1時間目, Golgi 域における細胞質の噴出像(矢印). 4. SKM 1日1mg, 3日間投与後, 異常核網像の出現. あたかも細胞分裂の前期を疑わしめる.

図版 II.

(5~7.) Ehrlich 腹水癌移植マウスに SKM 投与後の癌細胞の位相差顕微鏡像.

5. SKM 5mg 1回投与後1時間目, 分裂癌細胞の染色体の凝集像. 6. SKM 1日3mg, 3日間投与後, 異常巨細胞(5極分裂)像. 7. SKM 1日3mg, 3日間投与後, 腹水中の遊走組織球形細胞像. 組織球が癌細胞の崩壊物質を噴食している. 8. 異常分裂(橋形成)像. Ehrlich 腹水癌移植マウスに SKM 3mg 1回投与後8時間目, 腹水の塗抹標本, ヘマトキシリン・エオジン染色. 左下は分裂後期分離染色体群のうちに2本の橋形成(矢印)を作っている. 中央上は正常分裂中期像.

図版 III.

9. SKM 投与に伴うリンパ球の異常増殖. 正常マウスに SKM 1日3mg, 5日間投与後撲殺, 頸部リンパ節(米粒大)のヘマトキシリン・エオジン染色, 100倍拡大. 辺縁洞はリンパ球増殖のために圧迫されて明らかにみとめられない. 多数の有糸分裂像がみられる. (10~12.) Ehrlich 癌腫瘤内血管壁の透過性亢進. 10. 結節癌移植マウスに墨汁0.3cc 静注後1時間目撲殺, 摘出腫瘍の組織像, ヘマトキシリン・エオジン染色, 400倍拡大. 壊死部に移行する境界部では, 間質内血管壁に多量の墨粒が附着している(矢印). 11., 12. Ehrlich 結節癌移植マウスに螢光色素結合牛血清アルブミン0.5cc 静注後1時間目撲殺. 11. 摘出腫瘍切片の螢光顕微鏡像. 間質に多量の螢光色素がみられ

る。12. 同標本, 同部位のヘマトキシリン・エオジン染色 (同拡大)。13. 臨牀例 (胃癌, SKM 162g 投与後死亡) の剖検時摘出胃腫瘍組織像, ヘマトキシリン・エオジン染色, 400倍拡大。癌細胞の変性と結締組織化著明。癌巣は円柱上皮癌の病像を示す。14. (13.) 標本内の出血像 (同染色, 同拡大)。

図版 IV.

15. 臨牀例 (胃癌, SKM 150g 投与後死亡) の剖検時摘出脾組織像, ヘマトキシリン・エオジン染色, 100倍拡大。脾の上部1/3は硬塞像を示したが, 写真は健常部との境界である。硬塞部は壊死に陥り, 線維素が析出して線維化が始まっている。16. (15.) 症例の肝組織像, 同染色, 400倍拡大。肝細胞は萎縮し, 細胞質には胆汁色素が沈着, 核は大小不同。中心静脈の管腔を閉塞する硝子様栓子形成 (矢印) をみうる。17. 正常マウスの SKM 投与に伴う肺組織内出血像。SKM 1日 5mg, 5日間投与後撲殺, ヘマトキシリン・エオジン染色, 100倍拡大。肺組織内に強い出血巣がみられる。18. レ線照射による血管壁透過性の亢進。正常マウスに 200r レ線照射30分後墨汁 0.3cc 静注, 1時間後撲殺。腸管の血管壁には墨粒の附着が著明で, レ線による血管壁の透過性亢進を示す。19. SKM の腫瘍内血管壁透過性増強作用。Sarcoma 180 移植マウスに SKM 3mg 静注 1時間後墨汁 0.3cc 静注, 1時間後撲殺, 摘出腫瘍の組織像, ヘマトキシリン・エオジン染色, 400倍拡大。毛細血管は拡張し, 赤血球にみたされ, その管壁に墨粒が多量に附着している。矢印は壊死部。20. (19.) と同標本, 同拡大。腫瘍の壊死部に近い細血管壁には墨粒が著明に附着している (矢印)。(19.) とともに SKM が腫瘍内血管壁の透過性を著しく亢進させることを示している。

図版 V.

21. 自家製大腸菌濾液による Shwartzman 現象 (Ⅳ度)。家兎, 2倍稀釈大腸菌濾液準備注射 0.2cc, 惹起注射 2cc。惹起注射後 1時間目, 高度の出血ないし壊死を起す。22. SKM による Gross-緒方氏抑制類似反応。

家兎, 同上大腸菌濾液原液 0.2cc 皮内注射後 21時間目 SKM 0.5g 静注, 24時間目同上大腸菌濾液原液 2cc 静注。発現さるべき Shwartzman 現象は SKM によって完全に抑制されている。23. SKM の障害血管壁に対する出血増強作用。家兎, 準備注射, 惹起注射とともに同上大腸菌濾液千倍稀釈液 0.2cc 及び 2cc を用いて, Shwartzman 反応をⅡ度程度に止め, 惹起注射 3時間後 SKM 0.5g 静注。皮内注射部位は浮腫程度にすぎないが, その週辺には広汎な出血ないし壊死が起っている。写真説明図中矢印をつけた点線の丸印は準備注射部位を示した。

図版 VI.

(24.~26.) 累代第20代, SKM 耐性 Ehrlich 癌細胞の位相差像。24. SKM 1日 5mg を移植直後から投与し始め14日間連日注射, 投与終了後24時間目。軽度の細胞質収縮に伴う偽足様突起形成がみられるのみ。25. 同上試料。分裂癌細胞は染色体が軽く収縮しているが, 染色糸を明らかに識別しうる。26. 同上マウスに SKM 5mg 投与後 1時間目に採取した腹水中癌細胞像。細胞質の軽度の収縮, 小顆粒状突起形成, 核網像の軽度増加, 分裂癌細胞の染色体の凝集などがみられるが, これらの変化は SKM 1mg 投与時よりも軽い。

図版 VII.

(27.~30.) SKM 投与中耐性を獲得したと思われる肉腫症例の肺転移巣のレ線像の推移。27. 肺転移発見時 (昭和29年12月14日), 右肺下野に2個の陰影 ($1.5 \times 1.5\text{cm}^2, 3.0 \times 3.0\text{cm}^2$) がみられる。28. 入院時, 4,049r レ線深部治療後 (昭和30年4月6日), 2個の陰影 ($2.3 \times 2.4\text{cm}^2, 4.5 \times 4.3\text{cm}^2$) は著しく増大している。29. SKM 投与開始後27日目, 61g 使用後 (昭和30年5月2日), 2個の陰影 ($1.8 \times 2.8\text{cm}^2, 1.0 \times 4.0\text{cm}^2$) は縮小した。30. SKM 投与量減量後10日目 (昭和30年6月1日), 陰影 ($2.7 \times 2.7\text{cm}^2, 4.5 \times 5.0\text{cm}^2$) は再び著しく増大した。

図 版 I.

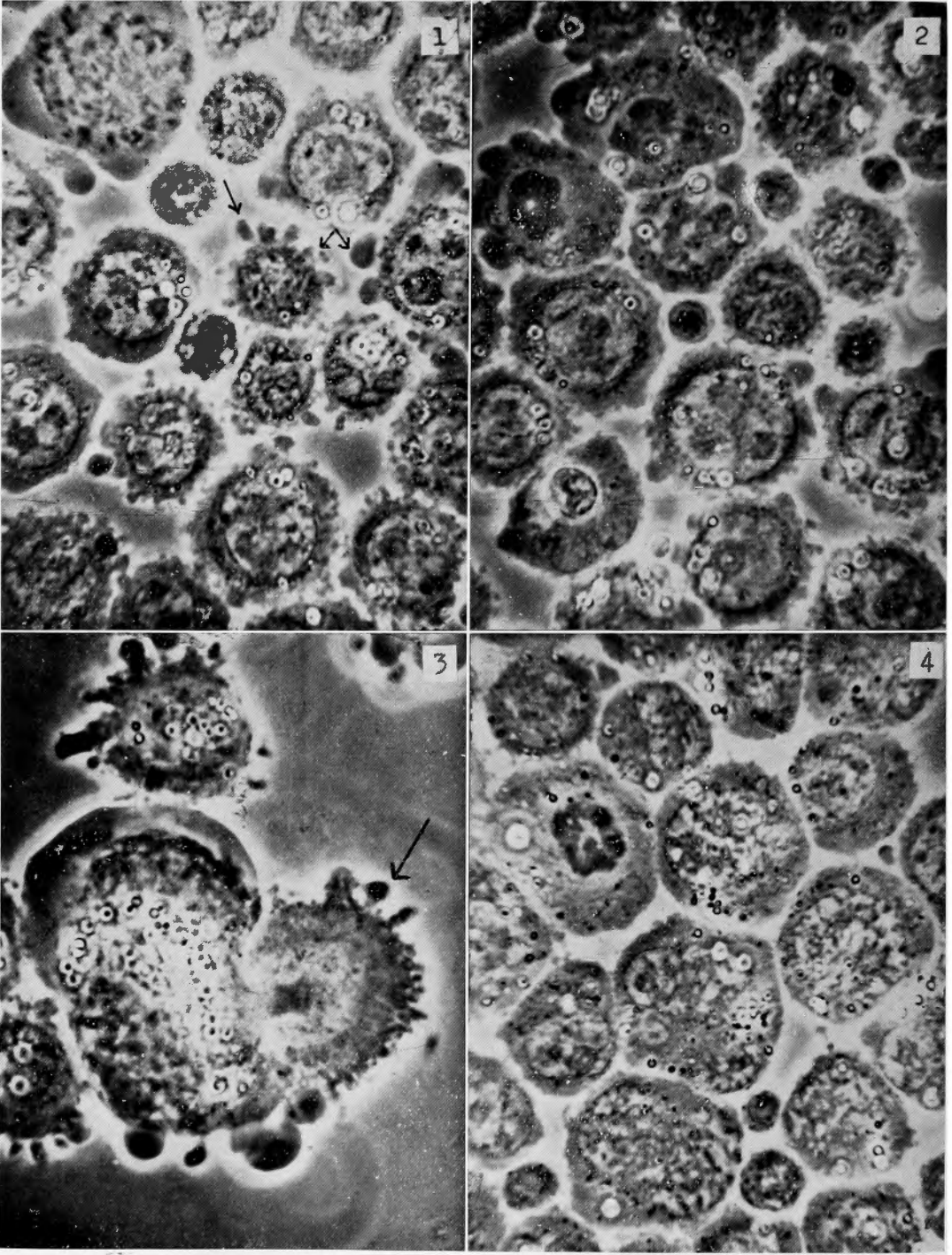


図 版 II

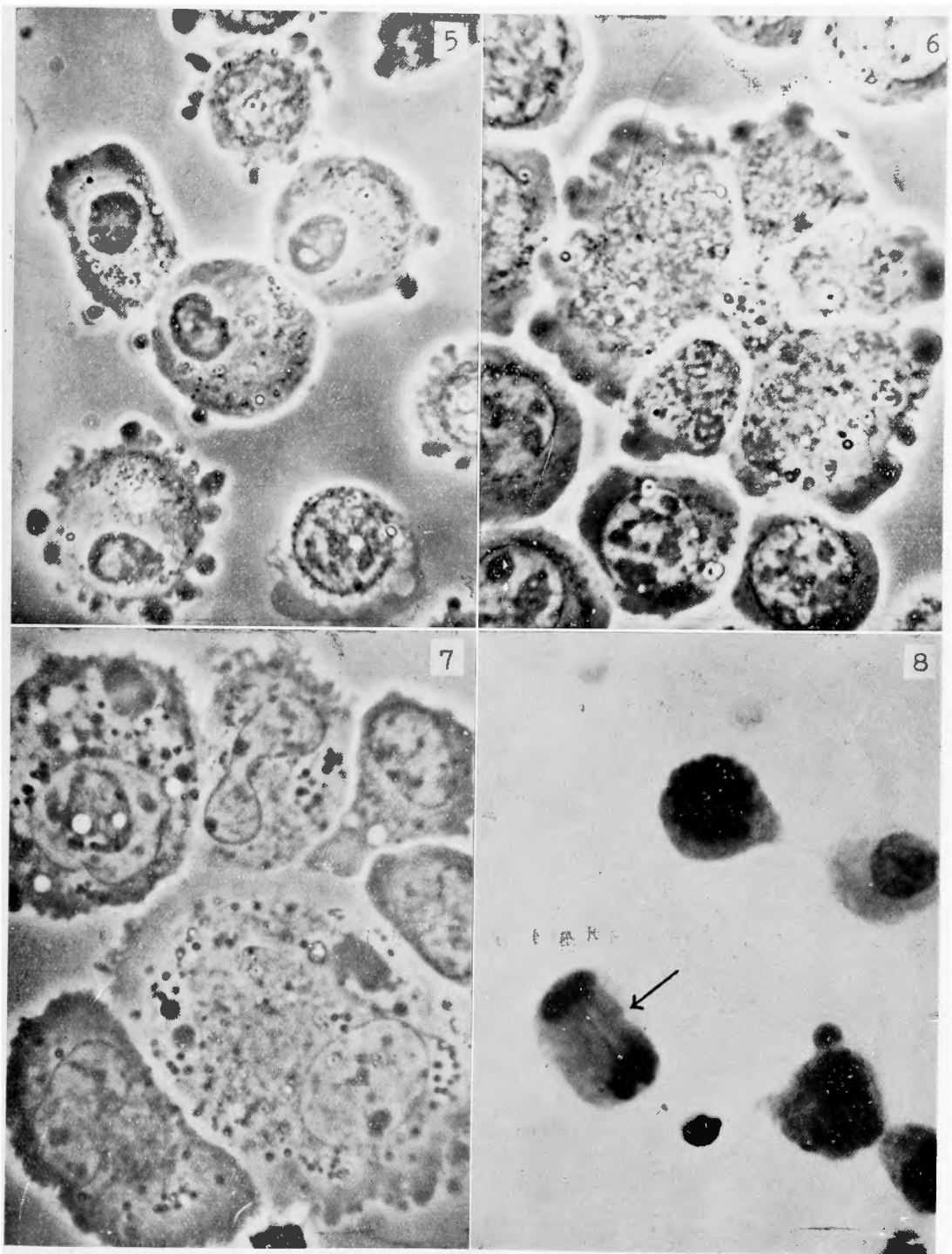


图 版 III

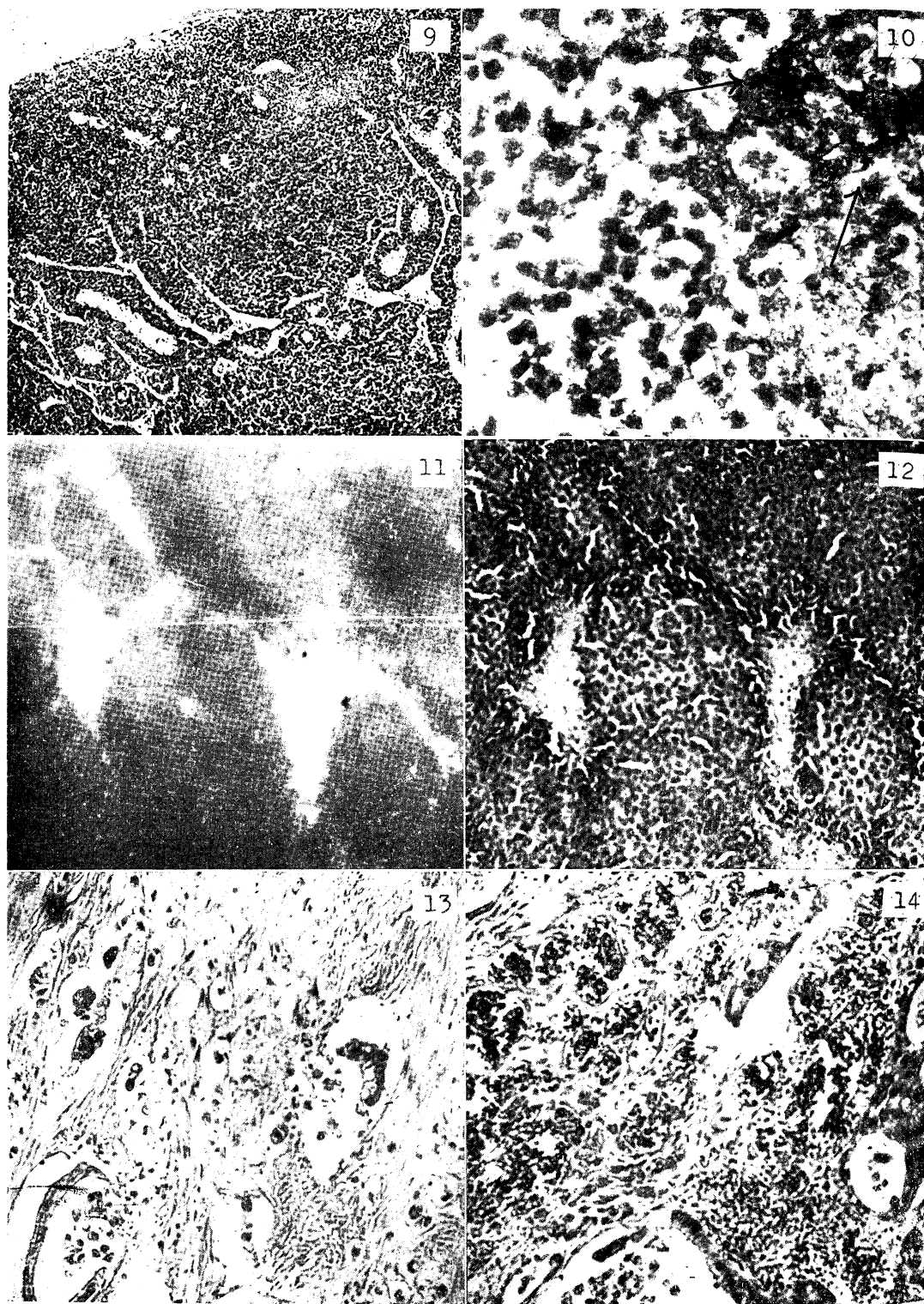
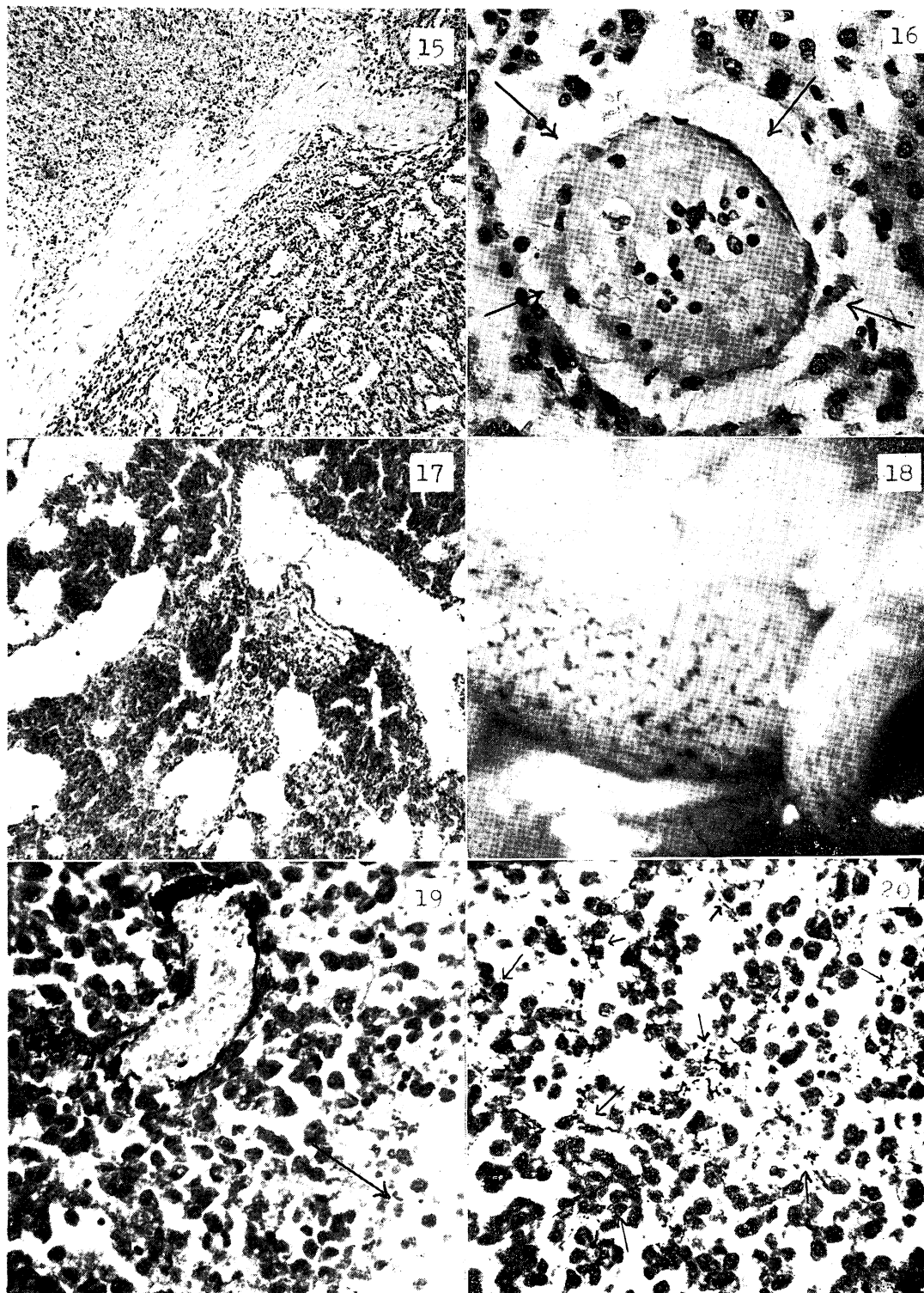


図 版 IV





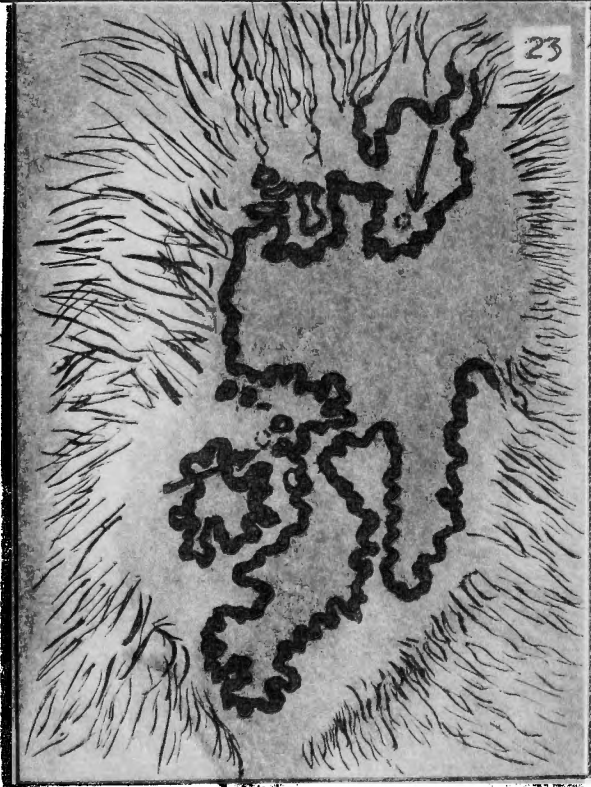
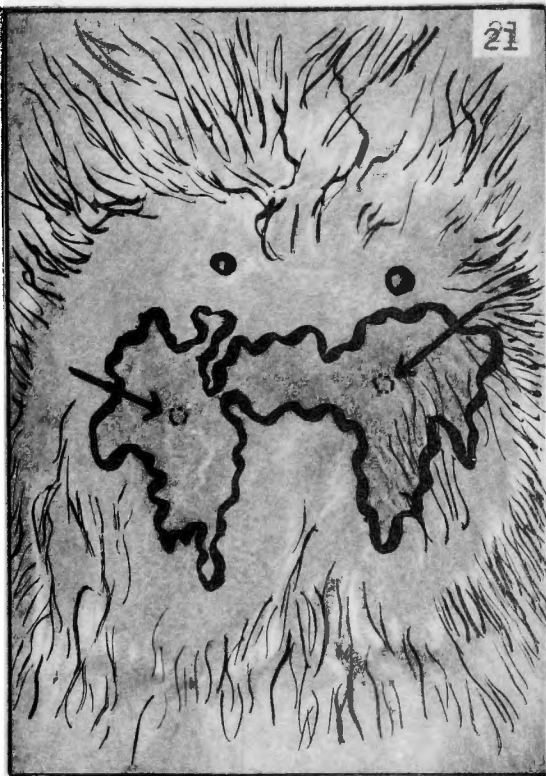


図 版 VI

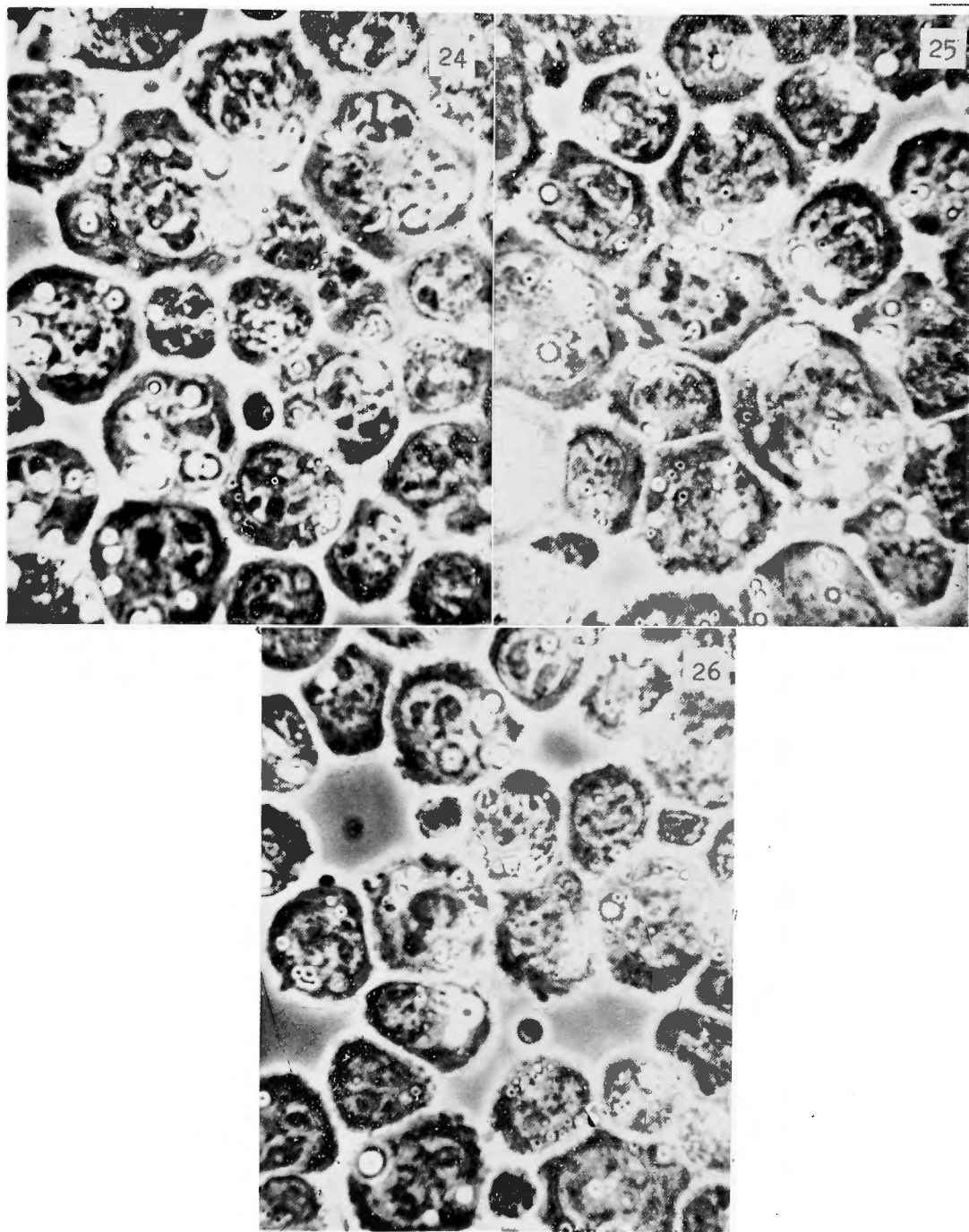
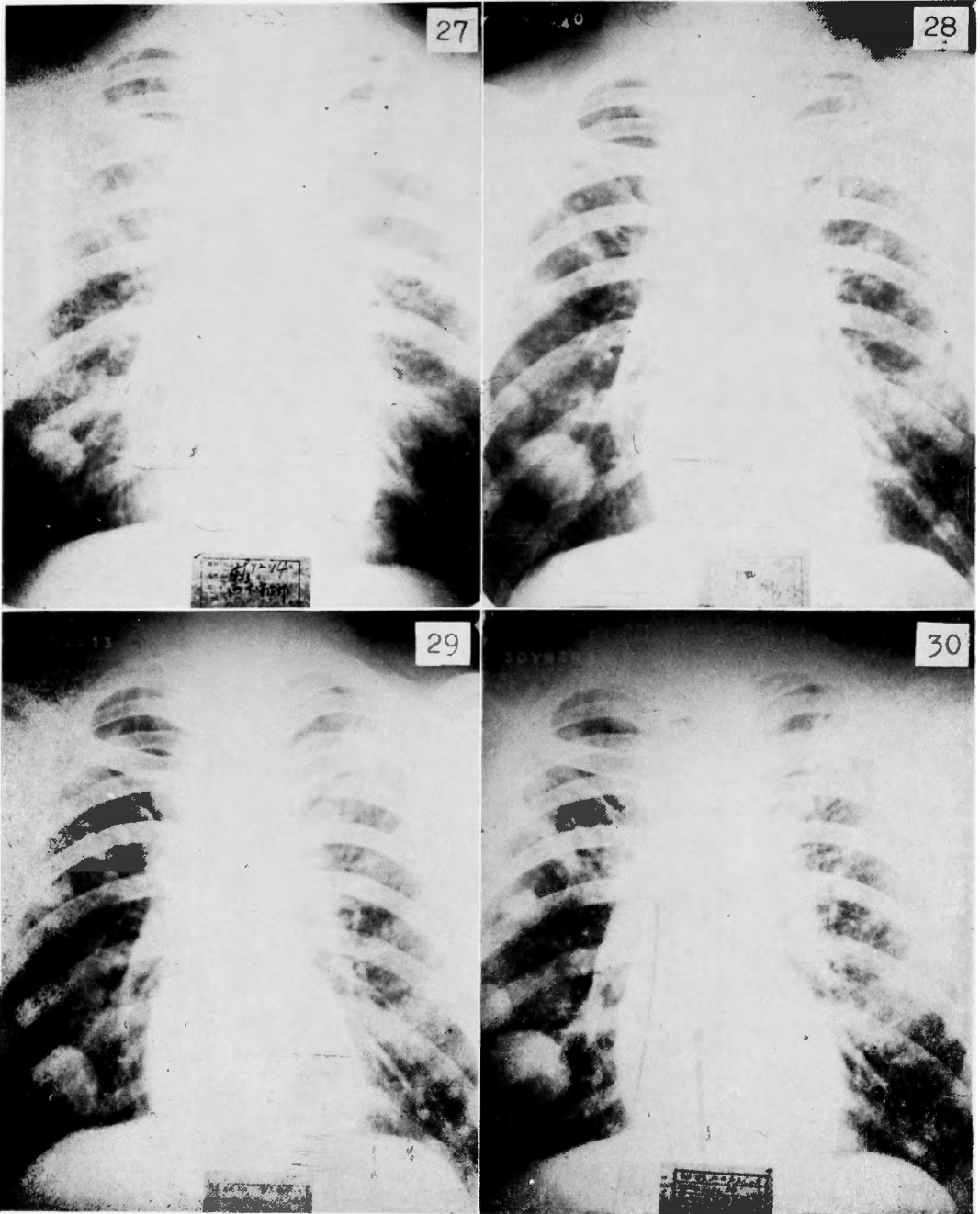


図 版 VII



図版 五

